Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H.-W. ALTMANN

STUDIEN ZUR ZELLULÄREN EIWEISS- UND NUKLEINSÄURE-SYNTHESE IM LEBEREPITHEL TEILHEPATEKTOMIERTER RATTEN

Autoradiographische Untersuchungen mit tritiiertem Cytidin, l-Phenylalanin und Thymidin

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Wilhelm Liebscher
Troppau / Sudetenland

Würzburg 1970

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H.-W. ALTMANN

STUDIEN ZUR ZELLULÄREN EIWEISS- UND NUKLEINSÄURE-SYNTHESE IM LEBEREPITHEL TEILHEPATEKTOMIERTER RATTEN

Autoradiographische Untersuchungen mit tritiiertem Cytidin, l-Phenylalanin und Thymidin

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Wilhelm Liebscher
Troppau / Sudetenland

Würzburg 1970

Referent: Professor Dr. med. E. S t ö c k e r

Korreferent: Professor Dr. med. H.-W. A l t m a n n

UNIV. LEIDEN BIBL.

Tag der Promotion:

Gedruckt mit Genehmigung der Hohen Medizinischen
Fakultät der Universität Würzburg

M E I N E M V A T E R

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543527_0040

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung

B. Material und Methodik
1. Tiermaterial
2. Teilhepatektomie
3. radioaktive Vorläufer
4. Anordnung der radioaktiven Versuche
5. autoradiographische Technik
6. Auswertung der Autoradiogramme
7. Berechnungen
8. ^{3}H-Aktivitätsmessungen im
   a) Methandurchflußzähler
   b) Flüssigkeitsszintillationsspektrometer

C. Ergebnisse
1. Die Größe von Nukleolus, Karyoplasma und Cytoplasma nach Teilhepatektomie (2/3 bzw. 1/3) im Verlauf der 1. Regenerationswelle
2. ^{3}H-Cytidin-Inkorporation im Verlauf und am Ende der 1. Regenerationswelle nach 2/3-Teilhepatektomie:
   a) Nukleolus und Karyoplasma)
   b) ^{3}H-Cytidin-RNS-Migration) im Verlauf der 1. Regenerationswelle
   c) ^{3}H-Cytidin-RNS-Migrationskinetik)
   d) ^{3}H-Cytidin-Inkorporation in Nukleolus und Karyoplasma, Migration und Migrationskinetik am Ende der 1. Regenerationswelle
3. Die zelluläre ^{3}H-Cytidin-Inkorporation am Ende der 1. Regenerationswelle nach 1/3-Teilhepatektomie
4. ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation am Anfang und Ende der 1. Regenerationswelle nach 2/3-Teilhepatektomie:
   a) Nukleolus, Karyoplasma und Cytoplasma
   b) Verhältnis der gesamten ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation im Cytoplasma zur ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation im gesamten Zellkern

5. ^{3}H-Cytidin- und ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation in Zellen außerhalb und innerhalb der S-Phase (1. Regenerationswelle nach 2/3-Teilhepatektomie):
   a) Vorbemerkungen
   b) ^{3}H-Cytidin-Inkorporation in Gesamtkern und Migration ins Cytoplasma
   c) ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation in Gesamtkern und Cytoplasma
6. ^{3}H-Cytidin- und ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation während der Mitose
7. ^{3}H-Aktivitätsmessungen im Flüssigkeitsszintillationsspektrometer und im Methandurchflußzähler

D. Diskussion
1. Zur Deutung der autoradiographischen Befunde nach Injektion von ^{3}H-Cytidin und ^{3}H-l-Phenylalanin als RNS- und Eiweiß-Neubildungsraten
2. Zur Deutung autoradiographischer Befunde nach Injektion von ^{3}H-Thymidin
3. Größe und Funktion des Nukleolus, Karyo- und Cytoplasmas während der epithelialen Leberregeneration
   a) Nukleoläre, karyo- und cytoplasmatische Größe am Anfang und während der 1. epithelialen Regenerationswelle
   b) Nukleoläre, karyo- und cytoplasmatische Größe am Ende der 1. epithelialen Regenerationswelle
4. RNS-Migrationskinetik
5. Koordination der Zell-Eiweiß-Synthese
6. RNS- und Eiweiß-Stoffwechsel in Chromosomen während der Mitose
7. Zelluläre RNS- und Eiweiß-Synthese während des Proliferationsstoffwechsels

E. Zusammenfassung

F. Tabellarischer Anhang

G. Literaturverzeichnis

A. Einleitung: [+])

Biochemische Tracer-Studien, sowie autoradiographische Experimente in den ersten Stunden nach 2/3-Teilhepatektomie vermittelten uns gute Vorstellungen über die zelluläre Ribonukleinsäure- (RNS-) und Eiweiß- (EW-)Synthese in der regenerierenden Rattenleber. Es wurden Anstiege der Kern-RNS- und der Zell-EW-Synthese beobachtet (BUSANNY-CASPARI und DEIMEL 1963; Lit. bei SIEBERT 1966; GRUNDMANN und SEIDEL 1969). Über die zelluläre RNS- und EW-Syntheseleistung im Verlauf der ersten Regenerationswelle nach partieller Hepatektomie ist dagegen speziell auf autoradiographischem Gebiet noch wenig bekannt.

Aus diesem Grund befassen sich unsere autoradiographischen Untersuchungen mit folgenden, auf den Zellstoffwechsel des Leberepithels bezogenen Problemen:

1. RNS-Synthese, RNS-Migration, RNS-Migrationskinetik und
2. EW-Synthese der Leberepithelzelle am Anfang, im Verlauf und am Ende der 1. Regenerationswelle nach partieller Hepatektomie (2/3 bzw. 1/3).
3. RNS- und EW-Synthese in den Chromosomen während der Mitose.

Diese Untersuchungen wurden autoradiographisch nach Injektion von ^{3}H-Cytidin bzw. ^{3}H-l-Phenylalanin durchgeführt.

4. RNS- und EW-Synthese in und außerhalb der Desoxyribonukleinsäure- (DNS-) Reduplikationsphase (= S-Phase) nach 2/3-Teilhepatektomie.

[+]) Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft und das Bundesministerium für Wissenschaftliche Forschung.

Dieser Frage wurde mit Doppelinjektion von ^{3}H-Cytidin + ^{3}H-Thymidin, bzw. ^{3}H-l-Phenylalanin + ^{3}H-Thymidin nachgegangen.

B. Material und Methodik: +)

1. Tiermaterial:

Die Versuche wurden an 36 männlichen, ausgewachsenen, im Mittel 320 g schweren Albinoratten (Sprague Dawley) durchgeführt. Als Kontrollen dienten weitere 10 männliche, im Mittel 265 g schweren Albinoratten des gleichen Stammes. Den unter konstanten Bedingungen gehaltenen Tieren waren Standardfutter (Altromin ^{R}) und Wasser ständig frei zugänglich.

2. Teilhepatektomie:

Nach 12-stündiger Nahrungskarenz wurde bei 32 Tieren eine typische 2/3-Teilhepatektomie in Anlehnung an HIGGINS und ANDERSON (1931) durchgeführt, wobei der mittlere und linke Leberlappen reseziert wurden. Das Gewicht der resezierten Leber betrug durchschnittlich 7,7 g. Bei 4 Tieren wurde nur der mittlere Leberlappen (durchschnittliches Gewicht 6,8 g) reseziert, was einer 1/3-Teilhepatektomie entspricht. Alle Tiere überlebten die Operation.

3. Radioaktive Vorläufer:

Als Vorläufer für die RNS-Synthese wurde ^{3}H-Cytidin und für die EW-Synthese ^{3}H-l-Phenylalanin appliziert.

+) Frau H. Liebscher, Frau H. Grüne, Frau H. Waldschmidt, Frl. A. Ühlein, Frau A. Schmidt, Frl. Ch. Kohaut danken wir für die technische Hilfe bei der Durchführung der Experimente.

Durch zusätzliches Verabreichen von ^{3}H-Thymidin, welches als selektiver Vorläufer für die DNS angesehen wird, grenzten wir Zellen in der S-Phase, wegen der erheblich intensiveren nuklearen Markierung, von solchen außerhalb der S-Phase ab.
Zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach Teilhepatektomie injizierten wir die Vorläufer den Versuchs- und Kontrolltieren intraperitoneal und pro radioaktiver Versuchsgruppe stets zu korrespondierenden Tageszeiten.

4. Versuchsbedingungen:

Das Tierkollektiv wurde in mehreren Versuchsserien mit unterschiedlichen Bedingungen aufgeteilt:

a) Injektion von ^{3}H-Cytidin (2,0 mCi/Tier, spez.Akt. 1,75 Ci/mMol, Schwarz Bio Research, New York) 22 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie. Radioaktive Versuchszeit 20 und 50 Minuten, 3 und 15 Stunden. Tötung 22^{20}, 22^{50}, 25 und 37 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie.
Kontrollen (STÖCKER 1963): Injektion von ^{3}H-Cytidin (1,66 bzw. 1,00 mCi/Tier, spez. Akt. 1,0 Ci/mMol, Schwarz Bio Research, New York). Radioaktive Versuchszeit = Tötungszeit: 20 und 50 Minuten, 3 und 15 Stunden.

b) Injektion von ^{3}H-Cytidin (2,0 mCi/Tier, spez. Akt. 1,75 Ci/mMol, bzw. 2,4 Ci/mMol, Schwarz Bio Research, New York) 39^{40} bzw. 40 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie. Radioaktive Versuchszeit: 20 und 50 Min. bzw. 3 Std.; Tötung 40, 40^{50} bzw. 43 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie.

c) Injektion von ^{3}H-Cytidin (2,0 mCi/Tier, spez. Akt. 2,4 Ci/mMol) 40 Std. nach 1/3-Teilhepatektomie. Radioaktive Versuchszeit 50 Min. und 3 Std.; Tötung 40^{50} und 43 Std. nach 1/3-Teilhepatektomie.

d) Injektion von ^{3}H-l-Phenylalanin $^{+}$) (3,0 mCi/Tier, spez. Akt. 39,4 Ci/mMol) 23 und 39 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie. Radioaktive Versuchszeit 1 Std.; Tötung 24 und 40 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie.
Kontrollen: Injektion von ^{3}H-l-Phenylalanin (2,0 mCi/Tier, spez. Akt. 39,4 Ci/mMol); radioaktive Versuchszeit = Tötungszeit: 1 Std.

e) Injektion von ^{3}H-Cytidin (1,0 mCi/Tier, spez. Akt. 1,75 Ci/mMol, Schwarz Bio Research, New York) + ^{3}H-Thymidin 0,5 mCi/Tier, spez. Akt. 3,0 Ci/mMol, Schwarz Bio Research, New York). Versuchsbedingungen für die Cytidin-Injektion wie in a); ^{3}H-Thymidin-Injektion 21^{20}, 21^{50} bzw. 22 Std. nach der 2/3-Teilhepatektomie; Tötung zu den in a) angegebenen postoperativen Zeitpunkten.

f) Injektion von ^{3}H-Cytidin (1,0 mCi/Tier, spez. Akt. 1,75 Ci/mMol) 39^{40} Std. + ^{3}H-Thymidin (0,5 mCi/Tier, spez.Akt. 3,0 Ci/mMol) 39 Std. nach der Teilhepatektomie. Radioaktive Versuchszeiten 20 bzw. 60 Min., Tötungszeit 40 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie.

g) Injektion von ^{3}H-l-Phenylalanin (3,0 mCi/Tier, spez. Akt. 39,4 Ci/mMol) + ^{3}H-Thymidin (0,5 mCi/Tier, spez. Akt. 3,0 Ci/mMol).

$^{+}$) für die Synthese der Aminosäure danken wir Herrn Doz. Dr. Dr. K. HEMPEL, Institut für Med. Strahlenkunde, Universität Würzburg

Für beide radioaktiven Vorläufer gleiche Bedingungen wie in d); d. h. radioaktive Versuchszeit 1 Std. Tötungszeit 24 bzw. 40 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie.

h) Aus einer anderen Versuchsserie 2/3-teilhepatektomierter Ratten (HÖPER 1968) wurden Tiere von uns zusätzlich quantitativ autoradiographisch bewertet. Diesen Ratten (mittl. Tiergewicht = 220 g) war stets 0,5 mCi ^{3}H-Thymidin (spez. Akt. 6,0 Ci/mMol, Schwarz Bio Research, New York) i.p. injiziert worden. 10 Ratten dieses Versuches wurden von uns herangezogen. Die Tiere waren 20, 24, 28, 32, 36 und 48 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie getötet worden, nachdem ihnen stets 1 Std. zuvor das ^{3}H-Thymidin appliziert worden war.

Alle Zeitpunkte der Experimente waren mit je 2 Tieren belegt, die radioaktiven Vorläufer wurden stets intraperitoneal injiziert.

5. A u t o r a d i o g r a p h i s c h e T e c h n i k :

Sofort nach dem Ausbluten der im Ätherrausch dekapitierten Ratten wurden Teile der Leber, der Nieren, des Pankreas und des Herzens für 48 Std. in 10 %igem, neutralem Formalin fixiert. Von den in üblicher Weise in Paraffin eingebetteten Organstücken wurden 3 bis 4 µ dicke Schnitte angefertigt. Freie, nicht in die Nukleinsäuren oder das Eiweiß inkorporierte, radioaktive Vorläufer wurden durch Zusatz von hochkonzentrierten Lösungen entsprechender inaktiver Vorläufer bzw. deren Gemische (0,25 mg/ml

Cytidin + 0,25 mg/ml Cytidylsäure; 0,5 mg/ml l-Phenylalanin; 0,5 mg/ml Thymidin) sowohl zu den Organstücken während der Fixation, als auch zu Waschlösungen entparaffinierter Schnitte vor der Autoradiographie ausgetauscht.

Für die Autoradiographie wurde Kodak AR 10 stripping film verwandt. Die Autoradiogramme wurden bei +4° C 2 - 60 Tage in trockener Luft exponiert. Nach Entwicklung und Fixation unter konstanten Bedingungen erfolgte die Nachfärbung der Autoradiogramme durch die Emulsionsschicht mit Hämatoxylin und Eosin.

6. Auswertung der Autoradiogramme:

Ausgewertet wurden die Autoradiogramme lichtmikroskopisch bei 1280facher Vergrößerung (8 x 100 x 1,6). In den Okularen waren ein Netz- und ein Skala-Mikrometer angebracht. Unter den angeschnittenen Zellen wurden nur solche ausgewählt, die ein rundes, deutlich erkennbares, möglichst zentral gelegenes Kernkörperchen aufwiesen.

Folgende Arbeitsgänge wurden durchgeführt:

a) Messung der Durchmesser von Nukleolus und Zellkern bei etwa 1600 Zellen der Kontrolltiere und bei 5300 Zellen der Versuchstiere mit Hilfe des Okularmikrometers und anschließender Flächen- und Volumenberechnung (siehe Abschnitt B 7).

b) Getrennte Auszählung der Silberkörner (SK) über Nukleolus, Karyoplasma und Cytoplasma. Die Expositionszeiten der angegebenen Versuchsbedingungen variierten von 6 - 24 Tagen.

Die Silberkornzahlen (SKZ) wurden durch geeignete Berechnungen (siehe Abschnitt B 7) auf eine Expositionszeit von 1 Tage umgerechnet und zum Teil mit applizierter Aktivitätsmenge und Körpergewicht korrigiert. Wegen des ab 16 Tagen Expositionszeit auftretenden "fading effects" (ALBOUY und FARAGGI 1949; HERZ 1951, 1959; MC LAUGHLIN und EHRLICH 1954; NORRIS und WOODRUFF 1954; MESSIER und LEBLOND 1957; LEBLOND, KOPRIWA und MESSIER 1963) verglichen wir auch nach Umrechnung der Werte auf 1 Tag (1 d) nur Gruppen gleicher Expositionslänge untereinander.

Wegen der geringen Energie von Tritium ($E_{\beta\ max}$= 18keV) ist die Reichweite der ß-Teilchen außerordentlich gering. Aus der Reichweite von etwas weniger als 1 µ in der fotographischen Schicht (MAURER 1959; SCHULTZE, OEHLERT und MAURER 1960) resultiert das gute autoradiographische Auflösungsvermögen, das dem optischen etwa gleich kommt. Daher können Silberkörner in Autoradiogrammen der unmittelbar unter der Filmschicht liegenden Zellstruktur ohne größeren Fehler zugeordnet werden.

Ausgezählt wurden Silberkörner über 50 - 380 Zellen pro Tier, wobei über Nukleolus, Karyoplasma und Cytoplasma getrennt gezählt wurde. SK, die etwa bis 1 µ vom Kernrand entfernt im Cytoplasma lagen (maximale Reichweite von ^3H), wurden noch dem Kern zugeordnet. Über dem Cytoplasma wurden Silberkornzählungen auf 2 Arten durchgeführt:

1. Zählung der SK ohne Bestimmung der cytoplasmatischen Fläche.
2. Zählung der SK über der cytoplasmatischen Fläche in Planquadraten von 6400 $/\mu^2$, die durch das Okularmikrometer vorgegeben waren. Nach Abzug der im Quadrat vorhandenen Kernflächen und Division der verbliebenen Fläche durch die Anzahl der Kerne ergab sich die durchschnittliche Fläche des Cytoplasmas einer Zelle. Ebenso erhält man die mittlere Silberkornzahl über dem Cytoplasma durch Division der SK über der cytoplasmatischen Fläche im Planquadrat, durch die Anzahl der Zellkerne im Planquadrat. Auf diese Weise wurden die cytoplasmatischen Flächen bei ca. 450 Zellen der Kontrolltiere und bei ca. 600 Zellen der Versuchstiere gewonnen.

   Bei den 2/3-teilhepatektomierten Versuchstieren am Ende der 1. Regenerationswelle war nach ^{3}H-Cytidin-Injektion eine ungleichmäßige, vielfach schwache Markierung zu bemerken. Daneben fanden sich auch Zellen mit intensiverer SKZ. Deshalb wurden 2 Silberkornzählungen vorgenommen: Einmal wurden die schwach markierten, zum anderen die stark markierten Zellen ausgewertet.

c) Bestimmung des ^{3}H-Index (= Prozentsatz der während der Verfügbarkeitszeit des ^{3}H-Thymidins DNS-synthetisierenden Zellkerne) und des MITOSE-Index (=Prozentsatz der zur Zeit der Tötung in Mitose befindlichen Zellen) bei

1280facher Vergrößerung. Präprophasen wurden schon als Mitosen gewertet.

7. Berechnungen:

a) Berechnung der mittleren nukleolären Fläche:

$$F = r_{mittel}^{2}$$

b) Berechnung der mittleren karyoplasmatischen Fläche: Bestimmung der Gesamtfläche des Kerns und anschliessende Subtraktion der nukleolären Fläche.

c) Berechnung der mittleren cytoplasmatischen Fläche: Bestimmung der Kernzahl in Planquadraten (6400 μ^2) und Berechnung der Kernflächen. Subtraktion der Summe der Kernflächen von der genormten Fläche des Planquadrates. Die mittlere cytoplasmatische Fläche ergibt sich durch Division der verbliebenen Fläche durch die Anzahl der Kerne im Planquadrat.

d) Berechnung der mittleren Volumina von Nukleolus und Karyoplasma: $V = 4/3\ r_{mittel}^{3}$
Bestimmung des Gesamtkernvolumens und anschließende Subtraktion des nukleolären Volumens.

e) Bestimmung der mittleren Silberkornzahl für Nukleolus, Karyoplasma und Cytoplasma auf die unterschiedlichen Tiergewichte und verabfolgten Aktivitätsdosen korrigiert ($SKZ_{1\ d/\frac{mCi}{g}}$), wobei 1 d der auf einen Tag umgerechneten Expositionszeit, mCi der injizierten Aktivitätsmenge und g dem Lebendgewicht des Tieres in Gramm entspricht.

f) Berechnung der Prozentanteile der Aktivität über Nukleolus, Karyoplasma und Cytoplasma, ausgehend von der Zellschnittfläche.

g) Berechnung des Quotienten SKZ Cytoplasma / SKZ Kern.

h) Berechnung der mittleren Silberkorndichte (SKD = SKZ / μ^2) für Nukleolus, Karyoplasma und Cytoplasma. Umrechnung auf 1 Tag Expositionszeit (SKD_{1d}).

i) Berechnung der mittleren $SKD_{1d} / \frac{mCi}{g}$ für Nukleolus, Karyoplasma und Cytoplasma auf die unterschiedlichen Tiergewichte und applizierten Aktivitätsdosen korrigiert (siehe 7 e).

8. Aktivitätsmessungen:

Die nachfolgenden Aktivitätsmessungen wurden durchgeführt, um die Vollständigkeit der Resorption der tritiierten Vorläufer, bzw. die Poolverhältnisse des freien Nucleosids und der freien Aminosäure unter den gegebenen experimentellen Bedingungen zu prüfen und mit Kontrollwerten zu vergleichen.

a) Methandurchflußzählungen

20 μ dicke Paraffinschnitte von Leber, Niere und Pankreas wurden im Methandurchflußzähler (Frieseke & Hoepfner, Erlangen-Bruck; ohne Endfenster, mit Kathodengitter) gemessen. Bei dieser Methode mißt man den Sättigungseffekt der sog. "dicken Schicht", da die Reichweite der ß-Strahlen von Tritium nur ca. 0,5 mg/ cm^2 beträgt (Einzelheiten zur Meßtechnik siehe STÖCKER, HAUSWALDT, und KLINGE 1965).

Jede Probe wurde 10 Minuten gemessen und unter Berücksichtigung des Null-Effektes auf Ipm (= Impulszahl pro Minute) umgerechnet. Mit Hilfe eines Projektionszeichengerätes wurde die Fläche des Schnittes bestimmt. Unter Berücksichtigung des Vergrößerungsfaktors des Projektionsgerätes konnte durch Planimetrieren die effektive Fläche des im Methandurchflußzähler gemessenen Organschnittes berechnet werden. Aus diesen Daten läßt sich dann der Quotient $\frac{Ipm}{mm^2} / \frac{\mu Ci}{g}$ ableiten, wobei wieder die applizierte Aktivitätsdosis (µCi) und das Tiergewicht (g) korrigierend eingehen.

b) Flüssigkeitsszintillationszählungen

Stücke der eingebetteten Organe wurden entparaffiniert und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Bis zu 20 mg wiegende Organstücke von Leber, Niere, Pankreas und Herz wurden in Sauerstoffatmosphäre verbrannt und das entstandene Oxydationswasser im Flüssigkeitsszintillationszähler (Tri-Carb, Fa. Packard, La Grange Ill. USA) gemessen. Das Szintillationsmedium enthielt 0,4 % PPO (2,5-Diphenyloxazol) und 0,0015 % POPOP (1,4 bis 2-(5-phenyl-oxazol)-benzol) in Toluol und abs. Alkohol (600 : 378). Die Zählausbeute betrug ca. 12,5 %. Aus den gemessenen Impulszahlen wurde unter Berücksichtigung der Verdünnung des Oxydationswassers, der Zählausbeute und der Menge des verbrannten Gewebsstückes die ^3H-Aktivitätsmenge in µCi berechnet und diese auf

1 g Trockengewicht (Organ) bezogen und dann wiederum mit der applizierten Aktivitätsdosis und dem Körpergewicht des Tieres korrigiert.

$$\frac{\mu Ci \text{ (gemessen Organ)}}{g \text{ (Organgewicht)}} \Big/ \frac{\mu Ci \text{ (applizierte } {}^{3}H\text{-Akt.-Menge)}}{g \text{ (Tiergewicht)}}$$

C. Ergebnisse:

1. Die Größe von Nukleolus, Karyoplasma und Cytoplasma nach Teilhepatektomie (2/3 bzw. 1/3) im Verlauf der 1. Regenerationswelle

a) 2/3-Teilhepatektomie

Die Tabelle 1 zeigt die mittleren Durchmesser, Flächen und Volumina von Nukleolus und Karyoplasma, sowie die mittlere Fläche von Cytoplasma der Kontroll- und Versuchstiere nach 2/3-Teilhepatektomie, außerdem den Steigerungsfaktor gegenüber den Kontrollen.

Nach 2/3-Teilhepatektomie kommt es demnach zu einer erheblichen Vergrößerung aller Zellkompartments, wobei die Volumenzunahme des Nukleolus um den Faktor 3,7 eindrucksvoll im Vordergrund steht. Demgegenüber nimmt das karyoplasmatische Volumen um den Faktor 1,6 und die cytoplasmatische Fläche um den Faktor 1,8 zu. Diese beträchtliche Steigerung der Größenzunahme der Zellbestandteile ist in Fig. 1 im Säulendiagramm aufgetragen.

In Fig. 2 sind die Durchmesser von Nukleolus und Zellkern als Funktion der Zeit von 22 bis 43 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie aufgezeichnet. Die Schwankungen sind außerordentlich gering. Es findet sich kein wesentlicher Unterschied der Durchmesser am Anfang und Ende der 1. Regenerationswelle. Bei weiteren Ausführungen werden wir mit dem Mittelwert der Durchmesser aller Versuchstiere arbeiten, der in Fig. 2 als waagrechte, gestrichelte Linie eingezeichnet ist.

b) 1/3-Teilhepatektomie

Auch die 1/3-Teilhepatektomie zeigt eine Vergrößerung aller Zellstrukturen, wobei auffälligerweise kein wesentlicher Größenunterschied zur 2/3-Teilhepatektomie besteht, wie aus Tab. 1 zu entnehmen ist. Sämtliche Steigerungsfaktoren entsprechen sich in beiden Serien sehr gut.

2. ^{3}H-Cytidin-Inkorporation im Verlauf und am Ende der 1. Regenerationswelle nach 2/3-Teilhepatektomie

a) Nukleolus und Karyoplasma

Die Fig. 3 gibt die mittlere korrigierte Silberkornzahl (a) ($SKZ_{1d}/\frac{mCi}{g}$) und die mittlere korrigierte Silberkorndichte (b) ($SKD_{1d}/\frac{mCi}{g}$) für den Nukleolus von Kontrollen und 2 Versuchsserien nach ^{3}H-Cytidin-Injektion als Funktion der radioaktiven Versuchszeit und der Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie wieder (siehe auch Abschnitt B 4 a). Rechts in der Figur ist die mittlere Fläche der Nukleolen von Kontroll- und Versuchstieren in μ^2 im Säulendiagramm dargestellt. Als Versuch I (----) sind die Ergebnisse der alleinigen ^{3}H-Cytidin-Serie, als Versuch II (-.-.-.) die der einfach - nur ^{3}H-Cytidin - markierten Kerne nach Injektion von ^{3}H-Cytidin + ^{3}H-Thymidin bezeichnet. Beide Versuchsreihen zeigen einen völlig identischen Kurvenverlauf.

Es ergibt sich, daß neben einer erheblichen Steigerung der Fläche der Nukleolen um den Faktor 2,4 auch eine deutliche Steigerung der SKZ besteht. Wie aus der Kurve ersichtlich, findet sich eine sehr viel höhere SKZ bei beiden Versuchsserien, als bei den Kontrollen, was besonders bei 20 und 50 Minuten nach ^{3}H-Cytidin-Applikation der Fall ist. Auch später (3 und 15 Stunden) liegen die Werte noch deutlich über dem Kontrollniveau.
Die Silberkorndichte (SKD) bietet dagegen einen anderen Kurvenverlauf. Außer einem geringfügig höheren Wert bis zu 50 Minuten besteht keine deutliche Differenz zum Kontrollkollektiv. Das besagt, daß die SKD - von einer geringfügigen initialen Steigerung bei 20 und 50 Minuten abgesehen - trotz starker Vergrößerung des Nukleolus im Versuchskollektiv bei Kontrollen und Versuchsserien gleich bleibt. Die Inkorporation von ^{3}H-Cytidin im Nukleolus nimmt weitgehend proportional der Flächenvergrößerung zu.

Im Karyoplasma finden wir analoge Resultate, wie Fig. 4 erkennen läßt. Auch hier wurde die SKZ $_{1d}/\frac{mCi}{g}$, sowie die SKD $_{1d}/\frac{mCi}{g}$ als Funktion der radioaktiven und somit der postoperativen Zeit aufgetragen. Die Vergrösserung des Karyoplasmas tritt nicht so deutlich hervor, wie es beim Nukleolus beobachtet wird. Die mittlere korrigierte SKZ zeigt im Vergleich zu den Kontrollen auch hier einen geringfügig höheren Wert bis zu 50 Minuten.

Die mittlere korrigierte SKD im Karyoplasma ist bei Versuchstieren und Kontrollen nahezu identisch. D.h., auch im Karyoplasma ergibt sich nach 2/3-Teilhepatektomie eine verstärkte ^{3}H-Cytidin-Inkorporation, wobei wiederum eine Proportionalität zur Flächenzunahme (Säulendiagramm rechts in der Figur) existiert.

b) ^{3}H-Cytidin-RNS-Migration

Ähnlich wie bei den vorherigen Befunden findet sich im Cytoplasma (Fig. 5, analoge graphische Darstellung wie in Fig. 3 und 4) eine starke Vergrößerung der Fläche (Säulendiagramm, Faktor 1,8). Die mittlere korrigierte SKZ (Fig. 5 a, --- / -.-.-) ist gegenüber den Kontrollen (———) wesentlich höher, die mittlere korrigierte SKD (Fig. 5 b) fast gleich. Lediglich bei 15 Std. radioaktiver Versuchszeit eines Versuchstieres findet sich eine größere mittlere Silberkorndichte, die durch die erheblich stärkere biologische Variationsbreite verursacht wird. (Streuung s. Fig. 5 a,b).

Betrachtet man die ^{3}H-Cytidin-RNS-Aktivität in den einzelnen Zellkompartments innerhalb der radioaktiv überspielten 15 Std. (Fig. 3 - 5), so zeichnet sich folgendes ab: Die anfänglich starke nukleoläre ^{3}H-Cytidin-Aktivität fällt im Verlauf dieser 15 Std. stark ab (Fig. 3), für das Karyoplasma gilt das in geringerem Maße (Fig. 4) und im Cytoplasma steigt die ^{3}H-Cytidin-Aktivität bis zum 15-Stunden-Wert nach Applikation des

tritiierten Vorläufers an (Fig. 5).
Das beinhaltet, die Migration von ^{3}H-Cytidin-RNS-Aktivität im Verlauf der 1. Regenerationswelle nach 2/3-Teilhepatektomie ist, bezogen auf die Silberkornzahl, gegenüber Kontrollen erheblich verstärkt. Berücksichtigt man aber die vergrößerten Flächen von Nukleolus, Karyo- und Cytoplasma, so sieht man deutlich, daß sie als Regulativ ins Spiel treten, denn die Silberkorndichten sind - abgesehen von geringen initialen nukleolären und terminalen cytoplasmatischen Abweichungen - weitgehend mit denen von Kontrollen vergleichbar. Flächenzunahme der Zellstrukturen, ^{3}H-Cytidin-Inkorporationssteigerung und Migrationsprozesse stehen also in einer gut ausgewogenen Proportion zueinander.

c) ^{3}H-Cytidin-RNS-Migrationskinetik

Fig. 6 a - c demonstriert den mittleren Prozentsatz der ^{3}H-Cytidin-RNS-Aktivität pro Zellstruktur an der zellulären Gesamtaktivität, als Funktion der radioaktiven Versuchszeit für Kontrollen (a) und 2 Versuchsserien (b,c) mit zusätzlich aufgetragener Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie. Die Kurven der prozentualen ^{3}H-Cytidin-RNS-Aktivität in beiden Versuchsserien sind nahezu identisch. Es fällt auf, daß bei kurzen radioaktiven Versuchszeiten die ^{3}H-Cytidin-RNS-Aktivität des Nukleolus in den Versuchsserien höher ist, als bei Kontrollen.

Bei den Kontrolltieren übersteigt die karyoplasmatische die nukleoläre ^{3}H-Cytidin-RNS-Aktivität. Die ^{3}H-Cytidin-RNS-Aktivität des Nukleolus der Versuchsserien weist einen steileren Abfall nach 50 Minuten auf, als es bei Kontrollen der Fall ist. Nach 3 Std. findet sich bei Kontroll- und Versuchsserien im Nukleolus und Karyoplasma bereits eine weitgehende Näherung der Werte, die bei 15 Std. eine absolute Angleichung erfahren haben. Der Anstieg der cytoplasmatischen Aktivität verläuft bei Kontrollen und Versuchstieren nahezu identisch. Aus dem Kurvenverlauf können wir also ersehen, daß die ^{3}H-Cytidin-RNS-Migrationskinetik während der ersten Regenerationswelle grundsätzlich vergleichbar mit der von Kontrollen ist, also ungestört abläuft.

d) ^{3}H-Cytidin-Inkorporation in Nukleolus und Karyoplasma, Migration und Migrationskinetik am Ende der 1. Regenerationswelle

Am Ende der 1. Regenerationswelle stellten wir eine allgemein geringe ^{3}H-Cytidin-Inkorporation in allen Zellkompartments fest. Nur verhältnismäßig wenige Zellen waren deutlich (im Mittel 7,5 %), andere demgegenüber nicht so deutlich markiert. Es wurden somit einmal die stark markierten Zellen, zum anderen die schwach markierten ausgewählt und differenziert ausgewertet.(Abb.8) Die Fig. 7 gibt die mittlere korrigierte Silberkornzahl

(a) ($SKZ_{1d}/\frac{mCi}{g}$) und die mittlere korrigierte Silberkorndichte (b) ($SKD_{1d}/\frac{mCi}{g}$) für den Nukleolus von Kontroll- und Versuchstieren am Ende der 1. Regenerationswelle nach ^{3}H-Cytidin-Injektion als Funktion der radioaktiven Versuchszeit mit zusätzlich aufgetragener Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie (siehe auch Abschnitt B 4 b) an. Rechts in der Figur sind die Flächen des Nukleolus von Kontroll- und Versuchstieren im Säulendiagramm gezeichnet. Die mit "minimal" und "maximal" bezeichneten Kurven zeigen die ^{3}H-Cytidin-Inkorporation bei schwach und stark markierten Zellen.

Aus der Fig. 7 a ist deutlich zu erkennen, daß die SKZ im Nukleolus stark markierter Kerne am Ende der 1. Regenerationswelle nach 2/3-Teilhepatektomie etwa den Kontrollen entspricht. Die nukleoläre SKZ der schwach markierten Zellen von Versuchstieren ist aber trotz einer auch hier noch vorhandenen großen Nukleolusfläche (Säulendiagramm) erheblich kleiner als im Kontrolltierkollektiv.

Noch eindrucksvoller müssen sich diese Befunde im Vergleich der Kurven von Silberkorndichten ausdrücken (Fig. 7 b). Die Werte liegen sowohl für die stark, als auch für die schwach markierten Nukleoli weit unter denen der Kontrolltiere und zwar beim 50-Minuten-Wert um den Faktor 2,7 bei den maximal markierten und sogar um den Faktor 33,1 bei den minimal markierten Nukleoli.

In einer analogen graphischen Darstellung sehen wir in

Fig. 8 die mittlere korrigierte SKZ, die mittlere korrigierte SKD, sowie die Flächen von Kontroll- und Versuchstieren (Säulendiagramm) für das Karyoplasma aufgezeichnet. Es finden sich grundsätzlich ähnliche Verhältnisse wie im Nukleolus. Die mittlere korrigierte SKZ (Fig. 8 a) zeigt auch im Karyoplasma trotz Flächenvergrößerung geringere Werte als bei den Kontrollen. Erwartungsgemäß sind die Silberkorndichten (Fig. 8 b) daher auch erheblich geringer als bei den Kontrollen, bei 50 Minuten um den Faktor 2,6 bei den stark markierten, und um den Faktor 18,3 bei den schwach markierten Zellen. Lediglich bei 20 Minuten findet man - wie auch im Nukleolus - bei den maximal markierten Zellen eine geringgradig verstärkte ^{3}H-Cytidin-Inkorporation.
Die Befunde, die im Cytoplasma gefunden wurden, lassen wiederum eine Reduzierung der SKZ und SKD erkennen. Analog den Kurven von Nukleolus und Karyoplasma wurde in Fig. 9 als Funktion der radioaktiven Versuchszeit die mittlere korrigierte cytoplasmatische SKZ und die mittlere korrigierte SKD aufgetragen, rechts wiederum der Flächenvergleich von Kontroll- und Versuchstieren. Wie deutlich zu sehen ist, erreichen die Silberkornzahlen (Fig. 9 a) selbst der stark markierten Zellen auch nicht annähernd die Werte der Kontrollen. Noch anschaulicher ist dieser Befund unter Berücksichtigung der großen Cytoplasmafläche in der Kurve der Silberkorndichten (Fig. 9 b) abzulesen, wo der Minderungsfaktor bei 50 Minuten 5,3

für die stark markierten Zellen und 10,5 für die schwach markierten Zellen beträgt.

Wir finden demnach am Ende der 1. Regenerationswelle nach 2/3-Teilhepatektomie eine beträchtlich verminderte ^{3}H-Cytidin-RNS-Migration aus dem Kernraum in den Zelleib bei gleichzeitig verminderter ^{3}H-Cytidin-Inkorporation im Kern und Nukleolus, ohne daß zu dieser postoperativen Zeit schon eine Abnahme der vergrößerten Flächen von Nukleolus, Karyo- und Cytoplasma abgeleitet werden könnte.

Die Migrationskinetik (Fig. 10) am Ende der 1. Regenerationswelle läuft bei den stark markierten, gegenüber den schwach markierten Zellen sehr unterschiedlich ab. In der Fig. 10 ist in Analogie zur Fig. 6 der mittlere Prozentsatz der ^{3}H-Cytidin-RNS-Aktivität pro Zellstruktur als Funktion der radioaktiven Versuchszeit für stark (a) und schwach (b) markierte Zellen wiedergegeben. Die Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie ist an der Basis der Figur aufgetragen. Bei den stark markierten Zellen (Fig. 10 a) registrieren wir keinen nennenswerten qualitativen Unterschied zu den Kontrollen (Fig. 6 a) und auch zu den beiden Versuchsreihen (Fig. 6 b,c) im Verlauf der 1. Regenerationswelle. Die Migrationskinetik für RNS ist hier also ungestört. Demgegenüber finden sich bei den schwach markierten Zellen (Fig. 10 b) auffällige Veränderungen. Die prozentuale ^{3}H-Cytidin-RNS-Aktivität ist auf Kosten des Kernraumes zugunsten des Cytoplasmas verschoben. Daß hier, bei der minimalen

absoluten Silberkornzahl über den einzelnen Zellanteilen, der - wenn auch nur in geringem Ausmaß vorhandene - Nulleffekt eine störende Rolle spielt, welcher sich vor allem im Cytoplasma auswirkt, ist durchaus anzunehmen. Aus diesem Grunde ist eine präzise Schlußfolgerung aus der gestörten RNS-Migrationskinetik in den schwach markierten Zellen nicht zulässig. Es sei hier also nur auf die qualitativen Unterschiede dieser gering geschwärzten Zellen gegenüber den stark markierten verwiesen.

3. Die zelluläre ^{3}H-Cytidin-Inkorporation am Ende der 1. Regenerationswelle nach 1/3-Teilhepatektomie

Die Fig. 11 zeigt die mittlere korrigierte SKZ und die mittlere korrigierte SKD, sowie die mittlere Fläche für den Nukleolus, das Karyo- und Cytoplasma von Kontroll- und Versuchstieren nach 1/3-Teilhepatektomie mit zusätzlich aufgetragener radioaktiver Versuchszeit und postoperativer Zeit im Säulendiagramm. Zum Vergleich wurden die entsprechenden Werte der 2/3-Teilhepatektomie-Serie aufgetragen und diese wie im vorhergehenden Abschnitt in stark und schwach markierte Zellen unterteilt. Alle Werte wurden am Ende der 1. epithelialen Regenerationswelle gewonnen. Als Voraussetzung sei zu der 1/3-Teilhepatektomie unter diesen experimentellen Bedingungen gesagt, daß sich dabei keine Unterschiede in stark und schwach markierte Zellen wie bei 2/3-teilhepatektomierten Ratten am Ende der 1. Regenerationswelle ergaben. Die Markierung war viel-

mehr homogen, d. h. von Zelle zu Zelle, wie bei Kontrollen, mehr oder minder gleich intensiv.

Aus dem Diagramm geht hervor, daß die Silberkornzahl im Nukleolus (links in der Figur) bei 50 Minuten in der 1/3-Teilhepatektomie-Serie etwa den Werten der Kontrollen und der 2/3-Teilhepatektomie-Serie in den stark markierten Zellen entspricht. Bei 3 Std. jedoch weisen die 1/3-teilhepatektomierten Ratten höhere Silberkornzahlen auf. Berücksichtigt man die Flächenänderung des Nukleolus, so zeichnen sich andere Befunde ab, wie aus dem Diagramm der Silberkorndichten zu ersehen ist. Zwar liegt die mittlere korrigierte SKD des Nukleolus bei 1/3-teilhepatekomierten Tieren höher als die Maxima bei 2/3-teilhepatektomierten Ratten, erreicht aber bei weitem nicht die Größenordnung der Kontrollen.

In der Mitte der Fig. 11 finden sich die entsprechenden Werte für das Karyoplasma. Hier liegt die mittlere korrigierte Silberkornzahl am Ende der 1. Regenerationswelle nach 1/3-Teilhepatektomie unter der von Kontrollen, aber noch über den Werten, die wir im Karyoplasma der ausgewählten, stark markierten Zellen der 2/3-Teilhepatektomie-Serie finden.

Betrachtet man diese Resultate unter dem Aspekt der Flächenvergrößerung, so ergibt sich das Diagramm der mittleren korrigierten Silberkorndichte. Der pro Volumeneinheit geringere ^{3}H-Cytidin-Einbau bei den 1/3-teilhepatektomierten Tieren am Ende der 1. Regenerationswelle ist klar erkennbar. Jedoch liegen auch die Werte im Karyo-

plasma weit über denen der maximal markierten Zellen nach 2/3-Teilhepatektomie unter identischen Versuchsbedingungen.
Die Ergebnisse der Silberkornzählungen, der Dichteberechnungen und die des Flächenvergleiches für das Cytoplasma sind rechts in der Figur 11 dargestellt. Die mittlere korrigierte Silberkornzahl im Cytoplasma der 1/3-teilhepatektomierten Tiere bei 50 Min. radioaktiver Versuchszeit ist geringer, bei 3 Std. höher als bei den Kontrollen. Bezogen auf die Flächenänderung - bei Betrachtung der Dichtediagramme - finden sich wieder ähnliche Befunde wie im Nukleolus und Karyoplasma. Die SKD im Cytoplasma der 1/3-Teilhepatektomie-Serie am Ende der 1. Regenerationswelle liegt weit unter den Kontrollwerten, jedoch erreichen die maximalen Dichten der korrespondierenden 2/3-Teilhepatektomie-Serie diese Werte nicht.

Zusammenfassend läßt sich zur zellulären ^{3}H-Cytidin-Inkorporation folgendes sagen:
Der Vorläufer-Einbau nach 1/3-Teilhepatektomie am Ende der 1. Regenerationswelle ist in allen Zellstrukturen geringer als bei den Kontrollen, wesentlich stärker aber, als bei identischen Tieren nach 2/3-Teilhepatektomie.
Stellt man die ^{3}H-Cytidin-RNS-Migrationskinetik der 1/3- und 2/3-teilhepatektomierten Tiere (stark markierte Zellen) am Ende der 1. Regenerationswelle gegenüber, so ergibt sich nachstehendes Bild:

In der Fig. 12 ist der mittlere Prozentsatz der ^{3}H-Cytidin-RNS-Aktivität pro Zellstruktur als Funktion der radioaktiven Versuchszeit niedergelegt. Die postoperative Zeit findet sich an der Basis der Figur. In a sind die Verhältnisse nach 1/3- und in b die in stark markierten Zellen nach 2/3-Teilhepatektomie wiedergegeben. Grundsätzlich ist ein angenähert ähnlicher Kurvenverlauf feststellbar. Initial führt der Nukleolus (——), das Karyoplasma (- - - -) liegt in der Mitte, das Cytoplasma (.-.-.-) unten. Später, bei längeren radioaktiven Versuchszeiten, tritt das Cytoplasma in Führung, während Nukleolus und Karyoplasma abfallen. Wenn auch die Schnittpunkte nach 1/3- etwas eher (etwa 1/2 Std.) auftreten als nach 2/3-Teilhepatektomie, so existiert doch kein prinzipieller qualitativer Unterschied zwischen beiden Versuchsserien am Ende der 1. parenchymatösen Regenerationswelle. Demzufolge ist die Migrationskinetik kaum unterschiedlich.

4. ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation am Anfang und Ende der 1. Regenerationswelle nach 2/3-Teilhepatektomie

a) Nukleolus, Karyoplasma und Cytoplasma

Die Fig. 13 demonstriert die mittlere korrigierte SKZ und die mittlere korrigierte SKD für Nukleolus, Karyo- und Cytoplasma von Kontroll- und Versuchstieren 24 und 40 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie. Weiterhin ist die mittlere nukleoläre Fläche von Kontroll- und Versuchs-

tieren aufgetragen. Dem Diagramm ist zu entnehmen, daß im Nukleolus (links in der Figur) 24 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie die mittlere korrigierte SKZ (oben) gegenüber den Kontrollen stark erhöht ist. Das gilt in geringerem Maße auch für 40 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie, jedoch liegt auch jetzt der Wert noch erheblich über dem von Kontrollen (etwa Faktor 2). Unter Berücksichtigung der Flächenvergrößerung der Nukleoli ergibt sich die mittlere korrigierte SKD (links unten), die, wie aus dem zugehörigen Diagramm zu ersehen, 24 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie wesentlich größer als bei den Kontrollen ist. Am Ende der 1. Regenerationswelle - 40 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie also - sind die Dichten von Kontroll- und Versuchstieren demgegenüber annähernd gleich. Zumindest am Anfang der 1. Regenerationswelle findet also im Nukleolus nach 2/3-Teilhepatektomie bei erheblicher Vergrößerung der Fläche eine, bezogen auf die Flächen- und unter Berücksichtigung der Massenbelegung auf die "Volumeneinheit", wesentlich stärkere ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation als bei Kontrollen statt. Am Ende der 1. Regenerationswelle sind diese Differenzen dagegen wieder ausgeglichen.

Ebenso wie im Nukleolus steigt die mittlere korrigierte SKZ im Karyoplasma (Mitte der Figur) der Versuchsserie gegenüber den Kontrollen stark an. Bei einer deutlichen karyoplasmatischen Flächenvergrößerung liegt die mittlere korrigierte SKZ (oben) bei 24 und 40 Std. radioaktiver Versuchszeit weit über den Kontrollwerten.

Die mittlere korrigierte SKD des Karyoplasmas (unten) zeigt ebenso bei beiden Versuchspunkten höhere Werte als bei Kontrollen.

Wir finden also im Karyoplasma bei einer schon erheblichen Flächenvergrößerung einen noch stärkeren ^{3}H-l-Phenylalanin-Einbau pro Volumeneinheit, als bei den Kontrollen. Die Syntheseleistung wird demzufolge - ganz im Gegensatz zum ^{3}H-Cytidin - in größerem Maße gesteigert, als es dem Umfang der Volumenzunahme entspricht.

In einem analogen Diagramm (Fig. 13 rechts) sind die mittlere korrigierte SKZ und SKD, sowie die Fläche für Cytoplasma von Kontrollen und 2/3-teilhepatektomierten Tieren aufgetragen. Auch hier kommt es zu einer massiven Steigerung der mittleren korrigierten SKZ (oben) bei erheblicher Vergrößerung der cytoplasmatischen Fläche. Das Dichtediagramm (unten) läßt erkennen, daß die Werte der Versuchstiere auch im Cytoplasma über denen der Kontrollen liegen. Es ergeben sich demzufolge ähnliche Verhältnisse im Zelleib, wie sie im Karyoplasma vorliegen und erörtert wurden.

Zusammenfassend läßt sich zur ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation in Nukleolus, Karyo- und Cytoplasma nach 2/3-Teilhepatektomie sagen, daß trotz Vergrößerung dieser Zellstrukturen, die auf Volumeneinheit bezogene Inkorporationsrate höher als die Flächenzunahme ist.

Dabei finden sich am Anfang der 1. Regenerationswelle, also bei 24 Std. nach der Operation in allen Zellkompartments größere Werte, als am Ende (40 Std. post operationem).

b) Verhältnis der gesamten ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation im Cytoplasma zur ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation im gesamten Zellkern

In Fig. 14 ist der prozentuale Anteil der ^{3}H-l-Phenylalanin-Aktivität für Cytoplasma und Gesamtkern im Säulendiagramm aufgezeichnet. Sowohl 24 Std. wie auch 40 Std. nach der Teilhepatektomie sind die Werte der Versuchstiere, ausgedrückt in %-Verteilung der Silberkörner, vollkommen identisch mit denen von Kontrollen. Auch die Resultate zweier postoperativer Serien stimmen untereinander sehr gut überein. Unter Versuch A sind 2/3-teilhepatektomierte Ratten nach alleiniger ^{3}H-l-Phenylalanin-Injektion, unter B solche, die nach Applikation von ^{3}H-l-Phenylalanin + ^{3}H-Thymidin nur die tritiierte Aminosäure eingebaut haben, zu verstehen.

Die Tab. 2 demonstriert dann in Zahlen den Quotienten: mittlere SKZ Cytoplasma / mittlere SKZ Gesamtkern nach Injektion von ^{3}H-l-Phenylalanin bei Kontrollen und den beiden Versuchsserien nach 2/3-Teilhepatektomie bei jeweils 1 Std. radioaktiver Versuchszeit (Tötung 24 und 40 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie). Die Werte weichen kaum von denen der Kontrollen ab, d.h. das Verhältnis der cytoplasmatischen zur Gesamtkern-^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation bleibt trotz forciertem

Einbau in die erheblich vergrößerten Zellstrukturen konstant. Alle Werte bewegen sich um 6, d. h. die cytoplasmatische Aminosäure-Inkorporation ist etwa 6 mal größer als die des gesamten Kernraumes.

5. ^{3}H-Cytidin- und ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation in Zellen außerhalb und innerhalb der S-Phase (1. Regenerationswelle nach 2/3-Teilhepatektomie)

a) Vorbemerkungen

Wie die Abb. 1 und 2 belegen, kann man Zellen, die sich in der S-Phase befinden, welche also zusätzlich ^{3}H-Thymidin inkorporiert haben, durch die erheblich intensivere nukleare Markierung von solchen, die nur ^{3}H-Cytidin bzw. ^{3}H-l-Phenylalanin eingebaut haben, - d.h. außerhalb der S-Phase liegen - exakt trennen. Abb. 3 zeigt eine alleinige ^{3}H-Thymidin-Markierung von Zellkernen innerhalb der S-Phase (nach 2/3-Teilhepatektomie). Den Fotogrammen kann die starke Markierung der zweifach inkorporierenden Zellkerne entnommen werden. Es kommt dadurch oft zu einer Streuung der Silberkörner ins angrenzende Cytoplasma. Hierdurch wird die Silberkornzählung erschwert, da eine genaue Zuordnung der Körner im Kernrandgebiet nicht mit absoluter Sicherheit vorgenommen werden kann. Dieser Fehler ist jedoch relativ klein und hat die Ergebnisse nicht wesentlich beeinflußt. Um einen Eindruck zu gewinnen, in welchem Umfang die von uns untersuchten Ratten an der Regeneration teilgenommen haben, bestimmten wir zu allen Tötungsterminen sowohl der ^{3}H-Cytidin- (22^{50}, 25 und 37 Std. post ope-

rationem) als auch der ^{3}H-l-Phenylalanin-Serie (24 und 40 Std. post operationem) den Mitose-Index. In der Fig. 15 ist dieser in % als Funktion der postoperativen Zeit niedergelegt. Wegen des langen Zeitintervalls zwischen 25 und 37 Std., in dem wir keine Tötung vorgenommen haben, ist die Kurve unterbrochen gezeichnet. Erfahrungsgemäß muß der echte Mitose-Index-Gipfel vor 37 Std. liegen (STÖCKER 1966, HEINE und STÖCKER 1967, HÖPER 1968). Vergleicht man unseren Mitose-Index-Wert bei 37 Std., der sich auf 6,3 % beläuft, so liegt er um ca. 2 % höher, als bei 2/3-teilhepatektomierten, eben ausgewachsenen, um 200 g schweren Ratten (STÖCKER 1966). Dieser Befund eines etwas höheren Mitose-Index in unserem Tiermaterial kann einmal damit zusammenhängen, daß wir an älteren Tieren (Gewicht 240 - 415 g) gearbeitet haben, wobei bekanntlich die erste epitheliale Regenerationswelle protrahiert abläuft (STÖCKER 1966, 1969, HEINE und STÖCKER 1967). Zum anderen sind die Mitosen bei längeren Zeiten nach der 2/3-Teilhepatektomie gestört (ALTMANN 1966, STÖCKER und PFEIFER 1965, 1967) und dauern dann länger, als es bei einer normalen Kernteilung der Fall ist. Wenn aber die Mitosezeit verlängert ist, so wird auch zwangsläufig der Mitose-Index höher sein, da dieser in direkter Proportionalität zur Mitosedauer steht.

Die Kurve in Fig. 15 fällt 40 und 43 Std. nach der Operation ab, was in etwa gut mit den Untersuchungen von

STÖCKER (1966), sowie HÖPER (1968) übereinstimmt. Bei der Art unserer Doppelinjektionstechnik (Injektion von ^{3}H-Cytidin + ^{3}H-Thymidin bzw. ^{3}H-l-Phenylalanin + ^{3}H-Thymidin am Anfang, respektive am Ende der 1. Regenerationswelle des Leberepithels), stellt sich die Frage, bei einer quantitativen Beurteilung der doppelt markierten Kerne, ob die Karyokinese bei 37 bzw. 40 Std. nach der 2/3-Teilhepatektomie schon völlig durchlaufen wurde und, wenn ja, in welchem Ausmaß. Um hierüber eine Vorstellung zu gewinnen, haben wir in der Fig. 16, welche aus den Arbeiten STÖCKER (1966), HÖPER (1968) stammt, den ^{3}H-Thymidin-Index als Funktion der postoperativen Zeit zunächst einmal links aufgetragen. Sodann haben wir aus den direkten Messungen der Generationszeit (STÖCKER 1966, STÖCKER und PFEIFER 1965, 1967) die maximale und minimale Dauer für S, G_2 und M abgeleitet. Anschließend verschoben wir in der Fig. 16 die ^{3}H-Index-Kurve einmal um die minimale Dauer von S, G_2 und M (11,5 Std.) und einmal um die maximale Dauer dieser Phasen (14,5 Std.) nach rechts. Nachfolgend planimetrierten wir die Flächen unter den Kurven und setzten die Fläche unter der echten, gemessenen ^{3}H-Index-Kurve als 100 %. Alsdann planimetrierten wir die Flächen unter den beiden nach rechts verschobenen Kurven vom Anstieg einmal bis zum 37-Std.- und zum anderen bis zum 40-Std.-Wert nach der Operation. Diese Werte wurden dann %-anteilig, bezogen

auf die Fläche unter der echten, bestimmten ^{3}H-Index-Kurve, ausgedrückt. Aus den Werten geht hervor, daß bei 37 Std. maximal 38,5 % und minimal 15,0 %, bei 40 Std. maximal 61,8 % und minimal 38,5 % der Zellen die Karyokinese durchlaufen haben können und dann als postmitotische G_1-Population in Erscheinung treten. Bei unseren Versuchen war mit Ausnahme eines Tieres eine Abnahme der Kernflächen oder eine auffällige Minderung der Silberkornzahl bzw. -dichte nicht registrierbar. Der %-satz von bereits geteilten Zellen muß also noch verhältnismäßig klein sein, was dafür spricht, daß die oben angestellten theoretischen Überlegungen wegen der Verlängerung der Mitosedauer gestörter Teilungsfiguren (STÖCKER und PFEIFER 1967) praktisch mehr für die angegebenen "minimalen" Werte zutrifft. Dieses eine, aus dem Rahmen fallende Tier zeigt 37 Std. nach der 2/3-Teilhepatektomie vielfach doppelt markierte Kerne, bei denen die Kernfläche und die Silberkornzahl nahezu um den Faktor 2 kleiner als bei anderen Doppeltmarkierten war. Bei diesem einzelnen Tier haben also erheblich mehr Zellen zu diesem postoperativen Zeitpunkt die Karyokinese schon durchlaufen.

b) ^{3}H-Cytidin-Inkorporation in Gesamtkern und Migration ins Cytoplasma

In der Fig. 17 ist die mittlere SKD_{1d} (= auf einen Tag Expositionszeit umgerechnete SKD) für den Gesamtkern

(Nukleolus + Karyoplasma) von Kontrollen (Säule 5) und Versuchstieren folgender Bedingungen aufgezeichnet: Säule 1 zeigt nur ^{3}H-Cytidin-markierte (a) und Säule 2 nur ^{3}H-Thymidin-markierte (Gesamt-)kerne (b). Die rechnerische Summe (a + b) ist in Säule 3 und der effektiv gemessene Wert (c) ist in Säule 4 dargestellt. Unter den Säulen ist die radioaktive Versuchszeit und die Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie aufgetragen. Die ^{3}H-Thymidin-Inkorporation gemessen an der Silberkorndichte bleibt im Verlauf der 1. Regenerationswelle (ab 18 bis 20 Std.) nach 2/3-Teilhepatektomie zu den von uns untersuchten Zeitpunkten(bis zu 48 Std.) weitgehend konstant (STÖCKER 1966, HÖPER 1968). Die mittlere SKD_{ld} im Gesamtkern der rein ^{3}H-Cytidin-markierten Zellen der Versuchstiere liegt zu allen Zeitpunkten etwa auf dem Niveau der Kontrollen. Im Verlauf, besonders aber am Anfang und am Ende der 1. Regenerationswelle nach simultaner ^{3}H-Cytidin + ^{3}H-Thymidin-Applikation liegen die gemessenen Werte der SKD_{ld} in S-Phasenkernen (c) weit höher, als die rechnerische Summe aus a + b ($a + b \ll c$).

Das Säulendiagramm (Fig. 18) zeigt die mittlere korrigierte SKZ_{ld} und SKD_{ld} für das Cytoplasma von Zellen außerhalb (I) und innerhalb (II) der S-Phase nach Gabe von ^{3}H-Cytidin + ^{3}H-Thymidin. Unter den Säulen ist wiederum die radioaktive Versuchszeit und die Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie aufgezeichnet. Abgesehen von sicherlich durch Zählfehler (Streuung von Silberkörnern

der stark doppelt markierten Kerne in das benachbarte Cytoplasma (siehe Abschnitt 5 a)) verursachten geringfügigen Differenzen ist die ^{3}H-Cytidin-Aktivität im Verlauf der 1. Regenerationswelle im Cytoplasma von Zellen außerhalb und innerhalb der S-Phase gleich. Der mittlere Doppelmarkierungs-Index (= Prozentsatz der ^{3}H-Cytidin + ^{3}H-Thymidin markierten Kerne bezogen auf alle ausgezählten Zellen) beläuft sich bei einem ^{3}H-Thymidin-Angebot am Anfang der epithelialen Regeneration (um 21 - 22 Std. post operationem) auf 8,4 % und bei einem solchen am Ende derselben (um 39 Std. p. op.) auf 6,0 %.

c) ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation in Gesamtkern und Cytoplasma

Die Fig. 19 stellt folgendes dar: Analog zum Diagramm 17 ist die SKD_{1d} für den Gesamtkern von Kontrollen (Säule 5) sowie für Zellen die nur ^{3}H-l-Phenylalanin (Säule 1) (a) und nur ^{3}H-Thymidin (Säule 2) (b) inkorporiert haben, aufgetragen. Weiterhin entspricht wieder die rechnerische Summe aus a + b Säule 3 und der effektiv gemessene Wert der doppeltmarkierten Gesamtkerne Säule 4 (c) bei jeweils 1 Std. radioaktiver Versuchszeit und Tötung 24 bzw. 40 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie.

Die ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation im Gesamtkern von Kontrollen und 2/3-teilhepatektomierten Tieren ist -

auf die SKD bezogen - wie im ^{3}H-Cytidin-Experiment (Fig. 17) etwa gleich. Wie schon oben erwähnt, bleibt die ^{3}H-Thymidin-Inkorporation im Verlauf der 1. Regenerationswelle konstant. Die gemessenen Werte der SKD_{1d} im doppeltmarkierten S-Phasenkern bei gleichzeitiger ^{3}H-l-Phenylalanin + ^{3}H-Thymidin-Inkorporation liegen weit höher als die rechnerische Summe der SKD_{1d} alleiniger ^{3}H-l-Phenylalanin-(a) und alleiniger ^{3}H-Thymidin-Versuchsserien (b). Neuerlich ergibt sich also: $a + b \ll c$.

Die mittlere korrigierte SKZ_{1d} und SKD_{1d} für das Cytoplasma von Zellen in (II) und außerhalb (I) der S-Phase nach Applikation von ^{3}H-l-Phenylalanin + ^{3}H-Thymidin ist in der Fig. 20 im Säulendiagramm aufgezeichnet. An der Basis der Darstellung finden sich die Zeiten nach 2/3-Teilhepatektomie bei jeweils 1 Std. radioaktiver Versuchszeit.

Aus der Figur geht eindeutig hervor, daß ähnlich wie in der ^{3}H-Cytidin-Serie auch die ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation im Cytoplasma von Zellen innerhalb und ausserhalb der S-Phase vollkommen gleich ist. Der Doppelmarkierungs-Index (= %satz der ^{3}H-l-Phenylalanin + ^{3}H-Thymidin einbauenden Kerne bezogen auf alle ausgezählten Zellen) beträgt im Mittel bei einem ^{3}H-Thymidin-Angebot am Anfang (um 23 Std. p. op.) 14,0 % und bei einem am Ende der epithelialen Regenerationswelle (um 39 Std. post hepatektomiam) 6,4 %.

Somit stimmen die Werte des Doppelmarkierungs-Index am

Ende der Regeneration im ^{3}H-Cytidin- (siehe Abschnitt 5 b) bzw. ^{3}H-l-Phenylalanin-Experiment recht gut überein. Daß die entsprechenden Resultate am Anfang der Regenerationswelle im ^{3}H-l-Phenylalanin-Experiment höher als im ^{3}H-Cytidin-Versuch liegen, geht allein darauf zurück, daß hier das ^{3}H-Thymidin etwa 1 - 2 Std. später, in einem Zeitintervall, wo der reine ^{3}H-Thymidin-Index stark ansteigt (Lit. bei STÖCKER 1966 und 1968), appliziert worden ist.

6. ^{3}H-Cytidin- und ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation während der Mitose

Am Ende der 1. Regenerationswelle haben wir wegen des hier noch recht hohen Mitose-Index (vgl. Fig. 15) die Frage überprüft, ob während der Kernteilung eine Inkorporation von tritiiertem Cytidin bzw. l-Phenylalanin registrierbar ist. Wir wählten nur solche Tiere in der ^{3}H-Cytidin-Serie, denen zwischen 39 und 40 Std. nach der Operation der radioaktive Vorläufer angeboten worden war und die dann 20 bzw. 50 Minuten überlebten. Im ^{3}H-l-Phenylalanin-Experiment wurde die markierte Aminosäure 39 Std. post hepatektomiam injiziert, die Tötung 60 Minuten später vorgenommen.

Folgende Ergebnisse zeichneten sich ab:

a) ^{3}H-Cytidin-Serie: Sowohl 20 als auch 50 Minuten nach der Vorläuferinjektion sind markierte Mitosen in allen Stadien (Abb. 4) nachweisbar. Allerdings variiert die Markierungsintensität beträchtlich und man kann ebenso wie bei den markierten Kernen stärker und schwächer geschwärzte Exemplare unterscheiden. Insgesamt gesehen ist - das gilt in gleichem Maße für das ^{3}H-l-Phenyl-

alanin-Experiment - die Silberkornbelegung der während der Mitose spiralisierten Chromosomen geringer, als die der markierten Kerne. Das geht einfach auf eine höhere Massenbelegung des chromosomalen Materials zurück mit einer daraus resultierenden Zunahme der ß-Selbstabsorption von Tritium (MAURER und PRIMBSCH 1964). Die Tatsache, daß ^{3}H-Cytidin-markierte Mitosen vorhanden sind, läßt auf eine lokale chromosomale RNS-Synthese schließen. Die Zeit von 20 bzw. 50 Minuten ist zu kurz, um einen Einbau des ^{3}H-Cytidins in die DNS annehmen zu können, da zu diesem Zeitpunkt nach 2/3-Teilhepatektomie die Zeitspanne vom Ende der S-Phase über G_2 bis zur Mitose mehrere Stunden beträgt (STÖCKER und PFEIFER 1965, 1967; STÖCKER 1966).
Studien über Telophasen in ^{3}H-Cytidin-Autoradiogrammen ließen erkennen, daß auch hier eine Vorläuferinkorporation stattfindet, wobei die beiden telophasischen Kerne etwa gleich stark markiert sind (siehe Abb. 5 a).
Schließlich zeigten Untersuchungen zur Verteilung der cytoplasmatischen ^{3}H-Cytidin-RNS-Aktivität, daß im Verlauf der Telophase die Schwärzungsintensität beider Tochterzellen etwa gleich ist (Abb. 5 b).

b) ^{3}H-l-Phenylalanin-Serie: Auch in diesen Experimenten ist eine Silberkornbelegung der Chromosomen nachweisbar (Abb. 6). Im Gegensatz zu den ^{3}H-Cytidin-Autoradiogrammen erscheint die Markierung gleichförmiger, so wie auch die ^{3}H-l-Phenylalanin-inkorporierenden Kerne zum

identischen postoperativen Zeitpunkt uniformer als im ^{3}H-Cytidin-Autoradiogramm geschwärzt sind.
Auch eindeutig gestörte Teilungsfiguren sind sowohl nach ^{3}H-Cytidin- als auch nach ^{3}H-l-Phenylalanin-Injektion markiert (Abb. 7).

7. ^{3}H-Aktivitätsmessungen im Flüssigkeitsszintillationsspektrometer und im Methandurchflußzähler

Die Figuren 21 und 22 dokumentieren den ^{3}H-Aktivitätseinbau nach ^{3}H-Cytidin- bzw. ^{3}H-l-Phenylalanin-Applikation im Versuchsorgan (Leber) und verschiedenen Referenzorganen (Niere, Pankreas, Herzmuskel). Die Messungen wurden einmal im Flüssigkeitsszintillationszähler

$$\left(\text{links, } \frac{\mu\text{Ci Organakt.}}{\text{g Organ}} \Big/ \frac{\mu\text{Ci applizierte Akt.}}{\text{g Körpergewicht}}\right)$$

und zum anderen im Methandurchflußzähler

$$\left(\text{rechts, } \frac{\text{Ipm}}{\text{mm}^2} \Big/ \frac{\mu\text{Ci applizierte Akt.}}{\text{g Körpergewicht}}\right)$$

vorgenommen.
Da in der Leber nach 2/3-Teilhepatektomie eine starke Vergrößerung aller Zellkompartments, besonders aber der Cytoplasmafläche beobachtet wird, korrigierten wir die gemessenen Aktivitäten bei den Versuchstieren der ^{3}H-Cytidin-Serie um den cytoplasmatischen Vergrößerungsfaktor 1,78 in den ersten 3 Std. radioaktiver Versuchszeit, da sich bis zu diesem Zeitpunkt das Gros der Aktivität im Kernraum befindet. Durch dieses Verfahren wird also die in der Leber nach 2/3-Teilhepatektomie pro Volumeneinheit auftretende kleine-

re Zellzahl gegenüber der Kontrolle abgefangen.
Sowohl in der ^{3}H-Cytidin- als auch in der ^{3}H-l-Phenylalanin-Serie zeigen sich bei beiden Meßverfahren geringe Abweichungen zwischen dem Kontroll- und Versuchstierkollektiv. Als Fehlerquellen sind hier nicht nur die starke biologische Variationsbreite und die Streuung bei den Aktivitätsmessungen (STÖCKER 1962) zu nennen. Es gehen sicherlich auch Fehler bei der Gewinnung des zu messenden Organmaterials ein, sei es, daß z. B. von der Niere einmal mehr Rinden- und einmal mehr Markgewebe entnommen wurde, was sehr unterschiedlich markiert sein kann (FICQ und BRACHET 1956). Beim Pankreas fällt besonders der Unterschied beider Meßverfahren auf. Dieser kann darauf beruhen, daß die im allgemeinen schwach markierten Bindegewebs- und Fettareale bei der Methandurchflußmethode planimetrisch eliminiert werden und somit eine Berechnung der ^{3}H-Aktivität für reines Parenchym vorgenommen wird, während bei der Messung im Flüssigkeitsszintillationszähler das gesamte Gewebe verascht wird - also mit in das Bezugssystem g Organgewicht eingeht - und daraus Durchschnittswerte von Parenchym und Binde- bzw. Fettgewebe resultieren.
Die Fig. 23 zeigt schließlich die Ergebnisse der Flüssigkeitsszintillationsspektrometrie für ^{3}H-Cytidin für Kontrollen und Versuchstiere im Verlauf der 1. Regenerationswelle nach 2/3-Teilhepatektomie. Als relativer Vergleich gilt die mittlere SKZ über der Gesamtzelle, wobei wir die ^{3}H-Cytidin-Aktivität gemessen an der mittleren SKZ der

Gesamtzelle representativ für die gesamte Leber ansehen. Der relative Kurvenverlauf gleicht sich fast vollkommen, d. h. ein Anstieg der ausgezählten Silberkörner entspricht einem gleichartigen Anstieg der gemessenen ^{3}H-Cytidin-Aktivität. Das ist ein Argument dafür, daß ein gröberer Fehler bei der Bestimmung der Silberkornzahl wohl ausgeschlossen werden kann.

D. Diskussion:

1. Zur Deutung der autoradiographischen Befunde nach Injektion von ^{3}H-Cytidin und ^{3}H-l-Phenylalanin als RNS- und Eiweiß-Neubildungsraten

Der Diskussion unserer Befunde möchten wir einige experimentell gesicherte oder zumindest wahrscheinlich gemachte Voraussetzungen zugrunde legen. Basierend auf den Resultaten einschlägiger biochemischer und autoradiographischer Studien von NIKLAS und OEHLERT (1956 und 1957) (NIKLAS, QUINCKE, MAURER und NEYEN 1958; MAURER 1959, 1960; SCHULTZE, OEHLERT und MAURER 1960, 1961; DEIMEL und MAURER 1961; SCHULTZE und MAURER 1962; SCHULTZE 1967, 1968 Lit.) nehmen wir die Schwärzungsintensität im Autoradiogramm über den Zellstrukturen nach Injektion von ^{3}H-Cytidin als Maß für die lokale Synthese fixierbarer RNS-Fraktionen und nach Injektion von ^{3}H-l-Phenylalanin als solches für die örtliche zelluläre Neubildung von Eiweiß.

Diesen Schluß kann man jedoch nur dann ziehen, wenn der Pool des endogenen Nukleosids (Cytidin) bzw. der freien Aminosäure (l-Phenylalanin) bei Kontrollen und Versuchstieren, in allen Organen und an allen Orten, an denen eine RNS- bzw. eine Eiweiß-Neubildung stattfindet, konstant ist (Lit. bei SCHULTZE 1968).

Aus diesen Gründen haben wir ^{3}H-Aktivitätsmessungen in der Leber und in Vergleichsorganen (Niere, Pankreas,

Herzmuskel) sowohl mit der Flüssigkeitsszintillationsspektrometrie- als auch mit Hilfe der Methandurchflußzähler-Methode nach Injektion von tritiierten Cytidin, bzw. l-Phenylalanin vorgenommen. Es zeigte sich dabei, wie in den Ergebnissen (Abschnitt 7) dargestellt, daß sich keine nennenswerten Abweichungen zwischen den Organen der Kontroll- und Versuchstiere ergaben. Kleinere unwesentliche Unterschiede in den Meßergebnissen sind in Abschnitt 7 erörtert worden.
Somit bieten also diese Resultate der ^{3}H-Aktivitätsmessungen die Grundvoraussetzung dafür, daß auch nach partieller Hepatektomie die Poolverhältnisse der endogenen Vorläufer nicht wesentlich von denen der Kontrollen abweichen. Dadurch werden die exogen zugeführten tritiierten Vorläufer (^{3}H-Cytidin, ^{3}H-l-Phenylalanin) im Organismus von Kontroll- und Versuchstieren gleichförmig verdünnt und das radioaktive angebotene Material zur örtlichen Neubildung von RNS bzw. Eiweiß pro Gewichtseinheit in quantitativ gleichem Maße utilisiert. Damit entspricht die autoradiographische Schwärzungsintensität auch bei Versuchstieren einer Bestimmung der örtlichen Neubildungsrate fixierbarer RNS- und Eiweiß-Fraktionen. D.h. eine Zu- bzw. Abnahme des Schwärzungsausmaßes im Autoradiogramm ist einer proportionalen Änderung der Syntheserate korreliert. Kontrollen und Versuchstiere können somit direkt untereinander verglichen werden. Die SKZ gibt dabei das Ausmaß der Neubildungsrate innerhalb einer Zellstruktur ohne Berücksichtigung ihrer Flä-

chenänderung an, die SKD bezieht sich auf eine Neubildung pro Flächeneinheit der Zellstruktur und, in gewissem Maße, unter Berücksichtigung der strukturgebundenen Massenbelegung auf die Volumeneinheit derselben (Lit. bei SCHULTZE 1968).

Unter den fixierbaren, primär höhermolekularen RNS-Fraktionen erfassen wir autoradiographisch einmal die ribosomalen RNS-, zum anderen auch sicher die messenger-RNS-Fraktionen (Lit. bei SCHULTZE 1967, 1968). Die niedermolekularen RNS-Fraktionen und Vorstufen gehen, ebenso wie die freien Nukleotide, mit dem Fixativum und zwar sehr wahrscheinlich in Abhängigkeit von der spezifischen Zusammensetzung und dem pH des Mediums in Lösung (vgl. FEINENDEGEN, BOND, SHREEVE und PAINTER 1960; FEINENDEGEN, BOND und PAINTER 1961; SCHULTZE, OEHLERT und MAURER 1961; SCHNEIDER und MAURER 1963; Lit. bei SCHULTZE 1967, 1968). Das dürfte insbesondere für die "transfer, soluble, s-RNA" zutreffen.

Was die Erfassung der örtlichen Eiweiß-Synthese angeht, liegen hier die Verhältnisse günstiger als bei der RNS. Die radioaktiv markierte Aminosäure wird peptidartig in das Eiweiß gebunden (MAURER 1959, 1960). Zum anderen ist der Verlust an Radioaktivität durch die Fixation und autoradiographische Technik relativ konstant und gering (bis 3 %. SCHULTZE 1967, 1968 Lit.).

Bei kurzen radioaktiven Versuchzeiten erfaßt man sowohl im ^{3}H-Cytidin- (20, 50 Min.) als auch im ^{3}H-l-Phenylalanin-Experiment (60 Min.) die örtliche Neubildung

fixierbarer RNS- und Eiweiß-Fraktionen und zwar nach ^{3}H-Cytidin-Applikation in Nukleolus und Karyoplasma, nach ^{3}H-l-Phenylalanin-Injektion in Nukleolus, Karyo- und Cytoplasma.

Bei längeren radioaktiven Versuchszeiten im ^{3}H-Cytidin-Versuch (3, 15 Std.) wird die Migration markierter fixierbarer RNS-Fraktionen aus dem Kernraum (Nukleolus + Karyoplasma) ins Cytoplasma in erster Linie registriert. Nach Injektion von ^{3}H-l-Phenylalanin haben gestufte Untersuchungen bis zu 60 Minuten Versuchsdauer gezeigt, daß sich innerhalb dieses Zeitraumes keine Anhaltspunkte für eine Migration von Eiweiß in Richtung Cytoplasma ergeben (STÖCKER 1963, 1964).

Schließlich sei erwähnt, daß wir im Kernraum keine Hinweise für eine wesentlich variable Massenbelegung (γ/μ^2) mit inkonstanter Selbstabsorption der ß-Energie von Tritium (MAURER und PRIMBSCH 1964) gefunden haben. Auf die Ausnahme, die die Mitosen diesbezüglich bieten, ist in Abschnitt C 6 hingewiesen worden.

Für das Cytoplasma nach partieller Hepatektomie gelten hinsichtlich der Massenbelegung andere Gesichtspunkte, die insbesondere mit der starken Verfettung, welche allerdings während der eigentlichen proliferativen Phase schon wieder in Rückbildung begriffen war, dem Glykogenschwund, dem Verlust der cytoplasmatischen Basophilie und mit dem Auftreten von Eiweißtropfen im Zelleib (Lit. bei ALTMANN 1966) zusammenhängen dürften. Hier sind sicherlich Differenzen in der Massenbelegung zwischen Kontroll-

und Versuchstieren gegeben. Unsere autoradiographischen Ergebnisse sprechen jedoch dafür, daß im restlichen, nicht verfetteten Cytoplasma entsprechend dem Ausfall des Zelleibs infolge der Verfettung für die Eiweiß-Synthese Kompensationsleistungen aufgebracht werden (vgl. ROBKE 1967, STÖCKER, ROBKE und MÜLLER 1967). So sieht man völlig unmarkierte Fettvakuolen im Paraffinschnitt, findet aber am Rande derselben und in den schmalen Cytoplasmabrücken zwischen mehreren Fetttropfen eine intensivere Silberkornbelegung. Dies ist etwa in dem Maße stärker, als es der für die Synthese ausgefallenen Cytoplasmafläche entspricht. Hierauf ist es wohl zurückzuführen, daß die Gesamt-SKD des Cytoplasmas von Kontroll- und Versuchstieren oft weitgehend gleich ist.

Für die RNS-Migration in das Cytoplasma und die daraus resultierenden Schwärzungsverteilungen im Zelleib gelten für die Versuchstiere ähnliche Überlegungen wie für die örtliche cytoplasmatische Eiweiß-Neubildung.

Eine exakte quantitative Bestimmung der SKD im nicht verfetteten Cytoplasma ist aus methodischen Gründen kaum oder gar nicht durchzuführen, da die Verfettung nicht immer zirkumskript abgegrenzt werden kann.

2. Zur Deutung autoradiographischer Befunde nach Injektion von ^{3}H-Thymidin

Nach Injektion von ^{3}H-Thymidin werden alle Zellen autoradiographisch geschwärzt, die sich während der Verfügbarkeitszeit des Vorläufers von 40 bis 60 Minuten (HUGHES, BOND, BRECHER, CRONKITE, PAINTER, QUASTLER und SHERMAN 1958; JOHNSON, RUBINI, CRONKITE und BOND 1960; KOBURG und SCHULTZE 1961; KOBURG 1963; Lit. bei STÖCKER 1966) in der S-Phase befinden.

Darüberhinaus wiesen vor allem KOBURG und SCHULTZE (1961); KOBURG und MAURER (1963); sowie KOBURG (1963) (vgl. EDWARDS, KOCH, YOUCIS, FREESE, LAITE und DONALSON 1960; BUSANNY-CASPARI 1962; HILSCHER und MAURER 1962; YOUNG 1962; RASCH 1964; PALME, LISS und WIEBEL 1965; STÖCKER und HEINE 1965; STÖCKER und BACH 1965; STÖCKER, HÖPER, PLATO und HEINE 1966; STÖCKER 1966, 1967; HÖPER 1968) darauf hin, daß die mittlere SKZ pro markierten Kern als relatives Maß für die in der Zeiteinheit neugebildete DNS innerhalb der zu erwartenden statistischen Schwankungen und innerhalb einer Ploidiestufe (BUSANNY-CASPARI 1962) in den verschiedensten Organen von Nagern überraschend konstant ist. Diese Ergebnisse sprechen also dafür, daß die DNS-Syntheserate innerhalb einer Ploidiestufe in unterschiedlichen Organen weitgehend gleich ist und, daß die gesamte Neubildungsrate in der nächsthöheren Stufe etwa auf den doppelten Wert zunimmt.

Untersuchungen zum Proliferationsmodus im Leberepithel

eben ausgewachsener und gleichaltrig 2/3-teilhepatektomierter Ratten ergaben folgendes Bild: Die Phasen S, G_2 und M dauern im Leberepithel unbehandelter Ratten doppelt so lange, wie in permanent rasch proliferierenden Geweben. Dabei ist die DNS-Syntheserate, gemessen an der SKD pro markiertem Kern halbiert. Dieser Proliferationsmodus wird als langsam bezeichnet. Zwischen 18 und 20 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie an eben ausgewachsenen Ratten wird dann der Proliferationsmodus auf eine andere Form umgestellt, die Phasen S, G_2 und M werden halbiert und die DNS-Syntheserate verdoppelt. Dieser Proliferationsmodus wird als schnell bezeichnet (STÖCKER und HEINE 1965; STÖCKER und BACH 1965; STÖCKER und PFEIFER 1965, 1967; STÖCKER 1966, 1967; HEINE 1968; HÖPER 1968). In unseren Experimenten arbeiten wir also stets nach dieser Umschaltung auf den schnellen Proliferationsmodus (die erste Injektion erfolgte gegen 21 Std. p. op.), was besonders zur Deutung der DNS-Syntheserate wichtig ist. Auch unsere letzten Vorläuferinjektionen und die entsprechenden Überlebenszeiten (bis zu 43 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie) fallen noch in dieses Umschaltungsintervall, das sich nach den Untersuchungen von STÖCKER (1966) und HÖPER (1968) bis zum Ende der von diesen Autoren überprüften postoperativen Zeit (48 Std.) erstreckte.
Indem wir diese hier angeführten Voraussetzungen der Deutung unserer autoradiographischen Befunde zugrunde legen, möchten wir im folgenden die einzelnen Ergebnisse diskutieren.

3. Größe und Funktion des Nukleolus, Karyo- und Cytoplasmas während der epithelialen Leberregeneration

Aufgrund unserer Versuchsanordnung und der experimentellen Resultate wollen wir zu dieser Frage so Stellung nehmen, daß wir hier die am Anfang und während der, sowie die am Ende der 1. epithelialen Regenerationswelle sich abzeichnenden Befunde getrennt abhandeln:

a) Nukleoläre, karyo- und cytoplasmatische Größe am Anfang und während der 1. epithelialen Regenerationswelle

Aus den dargelegten Befunden geht eindeutig hervor, daß sich - wie allgemein bekannt (ALTMANN 1966, GRUNDMANN und SEIDEL 1969, Lit.) - während der epithelialen Leberregeneration eine beträchtliche Größenzunahme von Nukleolus, Karyo- und Cytoplasma einstellt. In unseren Experimenten beliefen sich die auf das Volumen bezogenen Steigerungsfaktoren für den Nukleolus auf 3,7 (bis Faktor 4,0 wird in der Literatur angegeben: STOWELL 1948, 1949; GRUNDMANN und BACH 1960; CASTRO und FORAKER 1961; JORDAN 1964; ALTMANN 1966; STENGER und CONFER 1966; KLEINFELD 1966; MIRONESCU und DRAGOMIR 1966, 1967; STÖCKER, LIEBSCHER und ALTMANN 1967; KAUFMANN, TRAUB und TEITZ 1968) und für das Karyoplasma auf 1,6, während der flächenbezogene Steigerungsfaktor des Cytoplasmas 1,8 betrug.

Ganz entsprechend dieser Flächen- oder Volumensteigerung findet sich auch eine etwa proportionale Erhöhung

der SKZ. Daraus ist zu schließen, daß in den vergrösserten Zellkompartments eine verstärkte RNS-Synthese im Kernraum stattfindet. Bezogen auf die Flächen- und Volumeneinheit der Zellstrukturen - d.h. bei Berechnung der SKD - ist diese absolut mit Kontrollen vergleichbar.

Für die Eiweiß-Synthese gelten grundsätzlich ähnliche Verhältnisse. Lediglich ist hier die Silberkorndichte in Nukleolus, Karyo- und Cytoplasma der Versuchstiere etwas höher als bei Kontrollen. Dieser Steigerungsfaktor ist allerdings klein, sodaß wir ihn bei der Konfrontation Größe der Zellkompartments : Syntheseleistung unberücksichtigt lassen wollen und auf ihn erst im Verlauf der Deutung des Proliferationsstoffwechsels (ALTMANN 1966) wieder zurückkommen (s.S.61).

Summarisch kann also festgehalten werden, daß eine Koordination zwischen Syntheseleistungssteigerung und Flächenvergrößerung existiert. Demzufolge darf man in Bezug auf das Kernkörperchen und das Karyoplasma - was ihre RNS- und Eiweiß-Synthese angeht - sagen, daß hier Prozesse gegeben sind, die als "funktionelle Schwellung" interpretiert werden müssen (BENNINGHOFF 1949, 1950; ALTMANN 1952; STÖCKER, MAURER und ALTMANN 1961; STÖCKER 1962, 1963, 1964). Sehr ähnliche Befunde sind bereits bei der kurzdauernden funktionellen Kernschwellung autoradiographisch im pilokarpinisierten exokrinen Pankreas der Maus (STÖCKER, MAURER und ALTMANN 1961; STÖCKER

1962), sowie bei der langfristigen funktionellen Kernschwellung im Leberepithel nach Thioacetamid-Applikation (STÖCKER und ALTMANN 1963; STÖCKER 1963, 1964; STÖCKER und YOKOYAMA 1966) und schließlich kürzlich im Leberepithel bei der ebenfalls langfristigen Vergiftung mit N-Nitrosomorpholin (FRIEDERICHS 1970, STÖCKER und FRIEDERICHS) erhoben worden.

Am Beispiel der Leberepithelzelle nach partieller Hepatektomie kann man also feststellen, daß zu Beginn und während der 1. Regenerationswelle eine starke funktionelle Schwellung von Nukleolus und Karyoplasma erfolgt und die Zelle zu dieser Zeit der funktionellen Mehrbeanspruchung durch eine entsprechend erhöhte RNS- und Eiweiß-Synthese nachkommen kann. Diese funktionellen Leistungssteigerungen beginnen schon aufgrund biochemischer Tracer-Studien (Lit. bei SIEBERT 1966) und autoradiographischer Untersuchungen (BUSANNY-CASPARI und DEIMEL 1963) unmittelbar nach der Operation - also in der präproliferativen Phase (ALTMANN 1966, GRUNDMANN und SEIDEL 1969) - und erstreckten sich nach unseren Untersuchungen bis weit in die proliferative Phase der 1. Regenerationswelle.

Interessant ist auch schließlich noch der Befund, daß selbst die Flächenzunahme des Cytoplasmas einer verstärkten Eiweiß-Synthese angenähert proportional ist. Es wird also nicht nur der Kern von dieser funktionellen Schwellung (BENNINGHOFF 1949, 1950) sondern mehr oder minder die gesamte Zelle von einem solchen Zustand erfaßt, der

sich auch im Nukleolus und Cytoplasma äußert.

b) Nukleoläre, karyo- und cytoplasmatische Größe am Ende der 1. epithelialen Regenerationswelle

Den eben geschilderten Befunden gegenüber liegen am Ende der 1. Regenerationswelle (40 - 43 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie) andere Verhältnisse vor. Obwohl - wie wir nachweisen konnten - die Flächen von Nukleolus, Karyo- und Cytoplasma zu diesem Zeitpunkt noch nicht kleiner geworden sind, ist die Syntheseleistung vor allem für RNS, weniger für Eiweiß, in Nukleolus und Karyoplasma reduziert und auch die cytoplasmatische Eiweiß-Neubildung mäßig deprimiert.

Dieser Drosselungseffekt macht sich bei der RNS- in stärkerem Maße als bei der Eiweiß-Synthese bemerkbar. Insbesondere treten bei der RNS-Synthese am Ende der 1. Regenerationswelle eigenartige Effekte auf, insofern, als man einen kleinen Prozentsatz stark markierter von einem weitaus größeren Prozentsatz sehr schwach markierter Kerne abgrenzen kann. Diese Unterscheidung kann in Hinblick auf die Eiweiß-Synthese nicht vorgenommen werden. Auf diese unterschiedliche, deutlich von einander abhebbare Markierungsintensität im RNS-Autoradiogramm kommen wir im Verlauf der Diskussion des Proliferationsstoffwechsels (s. S. 63) zurück.

Im Hinblick auf die RNS-Synthese muß also en-bloc gesagt werden, daß sie am Ende der 1. Regenerationswelle ganz deutlich gemindert wird. Dieser Minderungsfaktor tritt möglicherweise - dafür sprechen unsere Unter-

suchungsergebnisse - sehr rasch ins Spiel, worauf vielleicht zurückgeht, daß sich noch keine karyometrisch faßbaren Flächenabnahmen der überprüften Zellstrukturen bis dahin eingestellt haben. Die Eiweiß-Synthese scheint diesem Drosselungseffekt nachzuhinken, was man häufiger bei experimentell induzierten zellulären Stoffwechselstörungen im Leberepithel, so nach Fütterung von Thioacetamid, gesehen hat (STÖCKER und ALTMANN 1963; STÖCKER 1963, 1964).

Insgesamt gesehen sprechen unsere nach 2/3-Teilhepatektomie im Leberepithel erhobenen Resultate dafür, daß sich am Ende der 1. Regenerationswelle der Zustand einer dissoziierten reduzierten Funktion der Zelle mit einer Diskrepanz zwischen Volumen und synthetischer Aktivität der Zellbestandteile einstellt. Dabei ist kaum anzunehmen, daß die funktionelle Kernschwellung fliessend in eine pathologische Kernschwellung übergeht, die wir bei Thioacetamid beobachtet haben (vgl. STÖCKER 1963, 1964). Entsprechende karyologische Hinweise für eine pathologische Kernschwellung haben wir jedenfalls nicht registriert.

Im Hinblick auf diese, nach 2/3-Teilhepatektomie auftretende, reduzierte Zellfunktion ist folgendes von Interesse: Bei 1/3-Teilhepatektomie stellt man zu identischen postoperativen Zeitpunkten zwar eine Minderung der SKD in Nukleolus und Karyoplasma, also eine Drosselung der RNS- und Eiweiß-Synthese gegenüber den

Kontrollen fest; dennoch liegen die bei 1/3-Teilhepatektomie zu identischen postoperativen Zeitpunkten registrierten Werte eindeutig über denen stark markierter Zellen nach 2/3-Teilhepatektomie, während sich die Flächen nach beiden Operationen kaum voneinander unterscheiden. Bei der quantitativ geringeren Operation, die auch die zelluläre Leberfunktion und die epitheliale Proliferation wohl in geringerem Maße beanspruchen dürfte, tritt also am Ende der 1. epithelialen Regenerationswelle nach 1/3-Teilhepatektomie auch der Zustand einer reduzierten zellulären Funktion in abgeschwächtem Maße auf.

4. RNS-Migrationskinetik

Unsere diesbezüglichen Resultate haben gezeigt, daß die RNS-Migrationskinetik bis zu 37 Std. postoperativ ungestört verläuft (STÖCKER 1967; STÖCKER, LIEBSCHER und ALTMANN 1967). Das beinhaltet, wie in vorausgegangenen Abschnitten dargelegt, daß die entsprechende Steigerung der RNS-Synthese in Nukleolus und Karyoplasma mit einer ihr adäquaten forcierten Abgabe von RNS in den Zelleib korreliert ist. Flächenzunahme, Syntheseleistungssteigerung und Migrationsmenge von RNS stehen also in einem wohlabgestimmten Zusammenspiel zueinander.
Ähnliche Befunde sind in den vergrößerten Leberzellen nach Fütterung von N-Nitrosomorpholin gesehen worden (FRIEDERICHS 1970; STÖCKER und FRIEDERICHS)

während nach Fütterung von Thioacetamid mit Störungen des RNS-Stoffwechsels in der Leberzelle ganz andere Ergebnisse in Erscheinung traten (STÖCKER 1963, 1964). Auch in Hinblick auf die Migrationskinetik liegen am Ende der 1. Regenerationswelle andere Verhältnisse als bis zu 37 Std. post operationem vor. Während die hier vorhandenen wenigen stark markierten Leberzellen keine qualitative Störung der Migrationskinetik aufweisen, tritt aber eine solche deutlich bei den zu diesem Zeitpunkt gleichfalls vorhandenen schwach markierten Exemplaren auf. Diese geht dahin, daß im Cytoplasma gegenüber Karyoplasma und Nukleolus relativ viel Radioaktivität registriert wird. Das kann aber möglicherweise - wie wir bei der Erörterung der Befunde ausführten (S.21 Fig. 10) - auf die extrem schwache Markierung mit dann höherem Zählfehler durch Null-Effekt beruhen. Dem gegenüber ist am Ende der 1. Regenerationswelle die Migrationskinetik nach 1/3-Teilhepatektomie qualitativ mit Kontrollen, 2/3-teilhepatektomierten Ratten am Anfang und den stark markierten Zellen am Ende der 1. Regenerationswelle nach 2/3-Teilhepatektomie vergleichbar.

5. Koordination der Zell-Eiweiß-Synthese

Zu der - klammert man die Befunde bei schwach markierten ^{3}H-Cytidin-Kernen am Ende der 1. Regenerationswelle aus - ungestörten RNS-Migrationskinetik fügt sich der Befund einer ebenso unalterierten Koordination des Zusammenspiels

Eiweiß-Synthese im Cytoplasma zu der im Gesamtkern (Nukleolus + Karyoplasma) gut ein.

Unsere Untersuchungen lassen erkennen, daß trotz einer gesteigerten nukleolären, karyo- und cytoplasmatischen Eiweiß-Synthese der Versuchstiere keine Differenzen in dem Quotienten SKZ Cytoplasma/SKZ Gesamtkern zu den Kontrollen existieren. Diese Zahlen bewegen sich stets um 6. Diese Befunde stehen im Einklang mit den Untersuchungen von CITOLER und MAURER (1963) und CITOLER, CITOLER,HEMPEL, SCHULTZE und MAURER (1966), die gezeigt haben, daß in verschiedenartigen Zellen der Maus und Ratte, auch nach Applikation unterschiedlicher Aminosäuren die Syntheserate im gesamten Cytoplasma im Mittel etwa 6 - 8 mal grösser als die Rate im ganzen Kern ist (vgl. LENNARTZ, HEMPEL und MAURER 1961; MAURER, LENNARTZ und HEMPEL 1962; HEMPEL, LENNARTZ und MAURER 1962; SCHULTZE und MAURER 1962; STÖCKER 1963, 1964; STÖCKER 1967; STÖCKER, LIEBSCHER und ALTMANN 1967; FRIEDERICHS 1970; STÖCKER und FRIEDERICHS).

Auch dieser Befund des gut aufeinander abgestimmten Zusammenspiels der Kern-Eiweiß- und RNS-Synthese spricht dafür, daß sich das Leberparenchym nach 2/3-Teilhepatektomie entsprechend den gesteigerten Anforderungen gut funktionell adaptiert. Denn bei Störungen der Zellfunktion - so im Herzmuskel des Rattenfoeten, bei Hepatitis der Maus, im hypertrophierten Herzmuskel der Ratte und schließlich auch in Tumoren werden starke Minderungen des Quotienten SKZ Cytoplasma/SKZ Gesamtkern gesehen. (CITOLER und MAURER 1963).

Auch nach Applikation von Thioacetamid, das zu einer Stö-

rung des RNS-Stoffwechsels mit Minderung der RNS-Migration in das Cytoplasma führt, fällt dieser Quotient stark ab (STÖCKER 1963, 1964).

Wie schon am Beispiel des Nitrosomorpholins in der Leberepithelzelle gezeigt wurde (FRIEDERICHS 1970, STÖCKER und FRIEDERICHS) ist demnach bei einer funktionellen Mehrbeanspruchung der Zelle eine ungestörte RNS-Migrationskinetik auch Grundvoraussetzung für eine gut koordinierte Neubildungsrate von Eiweiß in Zelleib und Gesamtkern. Denn eine Minderung der RNS-Migration zieht - wie am Beispiel des Thioacetamids bewiesen - eine Reduktion der cytoplasmatischen Eiweiß-Neubildungsrate nach sich und führt zwangsläufig zu einer Depression des Quotienten.

6. RNS- und Eiweiß-Stoffwechsel in Chromosomen während der Mitose

Wie unsere Untersuchungen über Mitosen während eines noch verhältnismäßig hohen Mitose-Index zwischen 37 und 43 Std. post hepatectomiam zeigten, sind eindeutige Markierungen direkt über den Chromosomen der Mitose nachweisbar. Dabei sind die Silberkörner meistens diffus über den Chromosomen verstreut. Gelegentlich finden sich aber auch lokale, möglicherweise mit dem Spindelansatz zusammenhängende Schwärzungen. Es wird also sowohl RNS als auch Eiweiß während der Mitose in den Chromosomen neu gebildet. Die Versuchsanordnung läßt dabei diese Aussage während der Mitose zu, da die radioaktiven Versuchszeiten so gewählt wurden,

daß bei Kenntnis der Länge von G_2 und der Mitosedauer (STÖCKER und PFEIFER 1965, 1967; STÖCKER 1966) ein Einbau des ^{3}H-Cytidins in die DNS oder eine Inkorporation von ^{3}H-Cytidin respektive ^{3}H-l-Phenylalanin während der G_2-Phase mit nachfolgender "Verschleppung" der Radioaktivität in die Mitose auszuschließen sind. Das gilt in unseren Experimenten sowohl für die Bedingungen nach singulärer ^{3}H-Cytidin- bzw. ^{3}H-l-Phenylalanin-Injektionen, als auch bei Doppelinjektionen von ^{3}H-Cytidin + ^{3}H-Thymidin bzw. ^{3}H-l-Phenylalanin + ^{3}H-Thymidin.

Eine quantitative Bestimmung der SKZ über den Mitosen und ihren einzelnen Phasen haben wir nicht vorgenommen, desgleichen nicht die Größe der Eiweiß-Neubildung im Cytoplasma während der Mitose exakt durch Silberkornzählungen und Dichteberechnungen bestimmt. Solche Untersuchungen sind von LINNARTZ-NIKLAS, HEMPEL und MAURER (1964) vorgenommen worden. Wir konnten rein vom Visuellen her die von diesen Autoren erhobenen Befunde bestätigen. Die RNS-Neubildung sinkt während der Prophase ab, ist am geringsten in der Meta- und Anaphase, steigt dann zur Telophase wieder beträchtlich an. Ähnliche Befunde gelten auch für die Eiweiß-Synthese, nur daß hier die Minderung während der Meta- und Anaphase nicht so deutlich ins Spiel tritt. Die Silberkornbelegung im Zelleib mitotischer Zellen im Eiweiß-Autoradiogramm ist geringer als im Cytoplasma von Ruhezellen. Abgesehen von dieser pro Phase der Mitose unterschiedlichen Syntheseleistung in den Chromosomen in unserem ^{3}H-Cytidin-Versuch am Ende der 1. Regenerationswelle, impo-

nierte nachfolgender Effekt: Genauso wie es zu dieser Zeit schwach und stark markierte ^{3}H-Cytidin-markierte Kerne gibt, so beobachtet man auch schwach und stark geschwärzte Teilungsfiguren mit den entsprechenden phasengebundenen, oben erwähnten Abweichungen. Dabei entsprechen sich in etwa die Verhältniszahlen schwach zu stark markierter Kerne, wie schwach zu stark markierte Mitosen.

In unseren Untersuchungen konnten wir darüberhinaus nachweisen, daß auch eine chromosomale RNS- und Eiweiß-Synthese in den zu späteren Zeitpunkten nach Teilhepatektomie auftretenden abnormen Teilungsfiguren existiert.
Aufschlußreich war für uns schließlich noch die Feststellung, daß während der Telophase RNS und Eiweiß in den beiden neuen Restitutionskernen mit etwa gleicher Intensität gebildet wird.

7. Zelluläre RNS- und Eiweiß-Synthese während des Proliferationsstoffwechsels

Unsere bislang getroffenen Aussagen zum RNS- und Eiweiß-Stoffwechsel in der Leberepithelzelle nach 2/3-Teilhepatektomie beziehen sich so gut wie ausschließlich auf solche Tiere, die während der Utilisierbarkeit der angebotenen radioaktiven Vorläufer (^{3}H-Cytidin, ^{3}H-l-Phenylalanin) nicht momentan an der DNS-Synthese beteiligt waren. Diese Zellen befinden sich also in der präproliferativen oder postproliferativen Phase des Proliferationsstoffwechsels (ALTMANN

1966), der - wie wir gesehen haben - gegenüber dem Funktionsstoffwechsel von Kontrollen stark gesteigert wurde. Es fiel uns bereits bei den nur ^{3}H-Cytidin- bzw. nur ^{3}H-l-Phenylalanin-injizierten Ratten auf, daß ein gewisser Anteil von Zellen im Kern ganz wesentlich stärker geschwärzt, meistens gar nicht mehr bei der Silberkornbestimmung auszählbar war. Überschlagsmäßige Berechnungen der Prozentanteile solcher Zellen an allen Zellen ließen erkennen, daß eine gewisse Angleichung dieser Werte an solche nach alleiniger ^{3}H-Thymidin-Injektion im Anschluß an eine 2/3-Teilhepatektomie an identischem Tiermaterial (STÖCKER 1966; HÖPER 1968, Lit.) vorlag. Dieser Befund ließ uns annehmen, daß derartige Zellen sich wohl in der S-Phase befanden und ein völlig anderes Kerninkorporationsschema aufwiesen.

Aus diesem Grunde führten wir dann die Doppelinjektionsserien durch, wobei den Tieren zu definierten Zeitpunkten nach der 2/3-Teilhepatektomie ^{3}H-Cytidin + ^{3}H-Thymidin, bzw. ^{3}H-l-Phenylalanin + ^{3}H-Thymidin angeboten wurde. Wie die Abb. 1 und 2 zeigen, tritt nach dieser Injektionstechnik eine noch wesentlich stärkere unterschiedliche Markierung im Kern, als nach alleiniger ^{3}H-Cytidin- bzw. ^{3}H-l-Phenylalanin-Applikation auf. Die intensiv geschwärzten Kerne haben also beide simultan angebotenen Vorläufer inkorporiert, sind demnach "doppelt markiert" und ohne jede Schwierigkeit von einfach markierten, nach Einbau nur eines Vorläufers abgrenzbar. Dabei entspricht der Doppelmarkierungsindex (= %satz doppelt markierter Kerne bezogen auf

alle ausgezählten Zellen) sehr gut dem alleinigen ^{3}H-Thymidin-Index (=%satz DNS-synthetisierender Kerne bezogen auf alle ausgezählten Kerne) zu korrespondierenden postoperativen Zeitpunkten.

Zur Beurteilung der Markierungsintensität nach alleiniger ^{3}H-Thymidin-Injektion im Anschluß an eine 2/3-Teilhepatektomie werteten wir Tiere aus anderen Versuchsserien (STÖCKER 1966; HÖPER 1968) aus.

Mit Hilfe dieser Doppelinjektionstechnik und der daraus resultierenden Doppelmarkierung der Kerne können die Stoffwechselvorgänge in Zellen innerhalb und außerhalb der S-Phase registriert und unter identischen postoperativen Versuchsbedingungen in einem Tier konfrontiert werden.

Die Stoffwechselvorgänge in Zellen mit doppelt markierten Kernen, die sich also in der proliferativen Phase des Proliferationsstoffwechsels (ALTMANN 1966) befinden, sind von denen außerhalb der DNS-Reduplikation, also in der post- bzw. präproliferativen Phase separierbar. Beide Stoffwechselprozesse können dem Funktionsstoffwechsel der Kontrollen konfrontiert werden.

Wenn wir im folgenden von Proliferationsstoffwechsel sprechen, beziehen wir uns also ganz streng nur auf diese doppelt markierten Exemplare, welche also in der proliferativen oder der Realisationsphase des regeneratorischen Prozesses stehen.

Unter diesen Voraussetzungen zeichnet sich folgendes ab:

Die RNS- und Eiweiß-Synthese in den Kernen (Nukleolus + Karyoplasma) innerhalb der S-Phase ist gegenüber solchen

außerhalb dieses Zeitraumes ganz deutlich gesteigert. Es wird also während der S-Phase im Kernraum mehr RNS und Eiweiß neugebildet, als in Zellen der gleichen Tiere unter identischen experimentellen Bedingungen, welche sich in anderen Phasen des Generationszyklus befinden. Demgegenüber ist die RNS-Migration in Zellen, welche die S-Phase momentan durchlaufen oder zuvor durchlaufen haben, annähernd gleich wie in allen übrigen Zellen. Bei unserer Versuchsanordnung, d. h. nach einer Vorläuferinjektion ca. 22 Std. post operationem und einer Tötung 3 bzw. 15 Std. später, muß es sich bei den Zellen, die die S-Phase schon passiert haben, überwiegend um G_2-Zellen und nur zu einem geringen Prozentsatz um neue postmitotische G_1-Zellen handeln, denn bei 37 Std. können maximal etwa 38,5 %, minimal 15,0 % G_1-Kerne nach unseren Berechnungen überhaupt zu erwarten sein (Fig. 16, S. 32).

Auch die cytoplasmatische Eiweiß-Neubildung ist in Zellen, deren Kerne sich momentan in der S-Phase befinden, identisch mit der in Zellen außerhalb derselben.

Versucht man eine Deutung dieser Befunde des Proliferationsstoffwechsels in der proliferativen Realisationsphase, so muß man noch einmal berücksichtigen (vgl. Fig. 13, S. 25 ff ; S.49), daß die SKD in den Eiweiß-Autoradiogrammen der Versuchstiere in allen Zellkompartments (Nukleolus, Karyo- und Cytoplasma) etwas höher als bei Kontrollen liegen. Es besteht also eine echte Aktivierung (STÖCKER, LIEBSCHER und ALTMANN 1967). Diese Phänomene - also sowohl die gesteigerte RNS- und Eiweiß-Synthese in allen S-Phasen-

kernen, als auch die generell (in und außerhalb der S-Phase) mäßig gesteigerte cytoplasmatische Eiweiß-Synthese - dienen unseres Erachtens in erster Linie einer Neubildung spezifischer, im Proliferationsstoffwechsel (ALTMANN 1966) benötigter Proteine. Dabei ist sowohl an Histone und Nichthistonproteine der sich reduplizierenden Chromosomen als auch an für die Mitose benötigte cytoplasmatische Spindelproteine zu denken (LIEBERMANN, ABRAMS und OVE 1963; TAYLOR 1963, 1965; ALTMANN 1966; STÖCKER, LIEBSCHER und ALTMANN 1967).

Der Begriff des Proliferationsstoffwechsels sollte - wie schon bei der Erklärung der Doppelmarkierungsversuche ausgeführt wurde - nur für solche Zellen geltend gemacht werden, deren Kerne sich momentan in der S-Phase bzw. auch in G_2 befinden. Dieser Proliferationsstoffwechsel muß von dem gegenüber Kontrollen gesteigerten Funktionsstoffwechsel in den übrigen Leberepithelien nach Teilhepatektomie abgetrennt werden. Bei unserer Versuchsanordnung kann gezeigt werden, daß der Prozentsatz der doppelt markierten Zellen im Proliferationsstoffwechsel zu Beginn und am Ende der 1. Regenerationswelle nach 2/3-Teilhepatektomie gegenüber den anderen Zellen im Funktionsstoffwechsel durchaus kleiner sein kann.

Darüberhinaus ist durch singuläre ^{3}H-Thymidin-Injektion bekannt, daß sich zu einem Zeitpunkt immer nur ein gewisser Prozentsatz von Leberepithelien in der S-Phase befinden (maximal um 40 %; STÖCKER 1966; HÖPER 1968, Lit.; STÖCKER und BOECKER). Auch wissen wir aus ^{3}H-Thymidin-

Dauerinfusionsexperimenten (STÖCKER 1966, 1967, 1968; HEINE und STÖCKER 1967, 1969), daß sich nach 2/3-Teilhepatektomie an Tieren in vergleichbarem Alter mit denen unseren Untersuchungsgutes keine 100%ige Markierung erreichen läßt, sodaß also eine "non growth fraction" in der regenerierenden Leber existiert. Diese Zellen können also per se auch bei langen Zeiträumen nach der Operation (bis zu 10 - 20 Tagen) nicht an der proliferativen Phase des Proliferationsstoffwechsels teilnehmen. Schließlich sei zur Frage des Proliferationsstoffwechsels noch erwähnt, daß sehr wahrscheinlich auch die stark markierten Kerne am Ende der 1. Regenerationswelle nach 2/3-Teilhepatektomie und alleiniger ^{3}H-Cytidin-Injektion hiermit beschäftigt sind. Denn der Prozentsatz dieser stark markierten Kerne, sowie der Doppelmarkierungsindex und der alleinige ^{3}H-Thymidin-Index zu identischen postoperativen Zeiten, entsprechen sich weitestgehend (vgl. S. 51). Diese Befunde sprechen also dafür, daß auch nach Abschluß der 1. Regenerationswelle noch ein gewisser Prozentsatz von Zellen im Proliferationsstoffwechsel verharrt.

Abschließend sei erwähnt, daß möglicherweise der am Ende der 1. Regenerationswelle die RNS- und auch in geringerem Maß die Eiweiß-Synthese betreffende Effekt der reduzierten, in Bezug auf das Volumen dissoziierten Zellfunktion (vgl. S. 52) ursächlich mit dem Abklingen der DNS-Synthese zusammenhängt. Jedenfalls sprechen einige unserer Befunde für eine solche Hytpothese.

Diese Resultate sollten zu einer Verlängerung der post-operativen Versuchsdauer sowie zu einer Ausarbeitung besonders mit Konfrontation der zellulären RNS- und Eiweiß-Synthese einerseits, in zeitlicher Korrelation zum Ablauf weiterer nachfolgender Regenerationswellen andererseits - also zum Studium des zellulären Proliferationsstoffwechsels (ALTMANN 1966) im weitesten Sinne - veranlassen und anregen.

E. Zusammenfassung:

An eben ausgewachsen, bzw. ausgewachsenen Sprague-Dawley-Ratten (Mittleres Tiergewicht 320 g) wurde nach typischer 2/3- bzw. 1/3-Teilhepatektomie die zelluläre RNS-, Eiweiß- und DNS-Synthese im Leberepithel bestimmt. Zu definierten Zeitpunkten nach der Operation (am Anfang, während der und am Ende der 1. epithelialen Regenerationswelle) wurden einmalige i.p.-Injektionen von ^{3}H-Cytidin bzw. ^{3}H-l-Phenylalanin vorgenommen. Die Tötung der Tiere erfolgte in der ^{3}H-Cytidin-Serie zu unterschiedlichen Zeitpunkten (20, 50 Minuten, 3 und 15 Stunden), in der ^{3}H-l-Phenylalanin-Serie 60 Minuten nach der Vorläuferinjektion. Darüberhinaus geben Untersuchungen nach simultaner Doppelinjektion von ^{3}H-Cytidin + ^{3}H-Thymidin, bzw. ^{3}H-l-Phenylalanin + ^{3}H-Thymidin Auskunft über die zelluläre RNS- und Eiweiß-Synthese im Leberepithel, deren Kerne sich innerhalb und außerhalb der S-Phase befinden.

Folgende Ergebnisse zeichneten sich ab:

1. Wie ^{3}H-Cytidin-RNS- bzw. ^{3}H-l-Phenylalanin-Eiweiß-Aktivitätsmessungen (Flüssigkeitsszintillationsspektrometer, Methandurchflußzähler) in Leber, Niere, Pankreas und Herzmuskel ergaben, existieren keine wesentlichen Unterschiede zwischen Kontrollen und Versuchstieren. Es darf daraus geschlossen werden, daß nach 2/3-Teilhepatektomie der endogene Cytidin- bzw. Phenylalanin-Pool gleich dem

von Kontrollen ist.
Somit werden die exogen zugeführten, radioaktiv markierten Vorläufer gleichmäßig im Tierorganismus verdünnt und zu den entsprechenden Synthesen utilisiert. Daher können Änderungen der autoradiographischen Schwärzungsintensität als proportionale Änderungen der überprüften Syntheseleistungen von Zellbestandteilen gedeutet und Befunde von Kontrollen und Versuchstieren direkt verglichen werden.

2. Die beträchtliche Flächenzunahme von Nukleolus, Karyo- und Cytoplasma nach 2/3-Teilhepatektomie ist am Anfang und während der 1. Regenerationswelle mit einer bei der RNS absolut proportionalen Steigerung der nukleolären und karyoplasmatischen Syntheseleistung koordiniert. Ähnliche Verhältnisse treffen auch für die Eiweiß-Synthese in Kernkörperchen, Karyo- und Cytoplasma zu, lediglich wird hier die flächenbezogene Syntheseleistung in allen Zellkompartments noch etwas stärker aktiviert. Die Vergrößerung von Nukleolus, Karyo- und Cytoplasma wird somit als Zustand einer funktionellen Zellschwellung gedeutet.

3. Demgegenüber ist die RNS-Synthese (Nukleolus, Karyoplasma), in geringerem Umfang auch die Eiweiß-Synthese (Nukleolus, Karyo- und Cytoplasma) am Ende der 1. Regenerationswelle reduziert, obgleich noch keine erfaßbare Abnahme der Flächen imponiert. Dieses Phänomen wird als

Ausdruck einer reduzierten dissoziierten Funktion der Zelle angesehen. Es ist - was die RNS-Synthese anbelangt - am Ende der 1. Regenerationswelle nach 1/3-Teilhepatektomie nicht so stark entwickelt, wie nach einer 2/3-Entfernung von Lebergewebe.

4. Die RNS-Migrationskinetik verläuft bis zu 37 Stunden nach der 2/3-Teilhepatektomie qualitativ wie bei Kontrollen. Entsprechend einer gesteigerten Neubildung von RNS im Nukleolus und Karyoplasma wird also auch eine grössere Menge von ^{3}H-Cytidin-RNS-Aktivität ins Cytoplasma abgegeben.

5. Auch die Koordination der Eiweiß-Synthese im Cytoplasma zu der im Gesamtkern (Nukleolus + Karyoplasma) bleibt bei Versuchstieren gegenüber Kontrollen gleich.

6. Während der Mitose erfolgt über den spiralisierten Chromosomen eine RNS- und Eiweiß-Synthese, welche aber während der Meta- und Anaphase stärker reduziert wird. In der Telophase ist die momentane RNS- und Eiweiß-Synthese in den beiden neuen Restitutionskernen etwa von gleicher Intensität. Auch in nach Teilhepatektomie zu späteren Zeitpunkten auftretenden abnormen Kernteilungsfiguren ist eine RNS- und Eiweiß-Neubildung vorhanden.

7. Nach simultaner Doppelinjektion der Vorläufer sind die Zellen, die sich momentan in der proliferativen Phase

des Proliferationsstoffwechsels befinden zu erfassen und von denen in der prä- bzw. postproliferativen Phase abgrenzbar. Es zeigt sich, daß innerhalb von S-Phasen-Kernen die Synthese von RNS und Eiweiß im Nukleolus und Karyoplasma ganz erheblich gegenüber denen ausserhalb dieser Phase forciert wird. Demgegenüber verläuft die RNS-Migrationskinetik bei Zellen in der S-Phase, in G_2 oder einer "neuen" postmitotischen G_1-Phase so, wie in den Zellen, die noch nicht an der Karyokinese teilgenommen haben, sich also noch in einer "alten" präsynthetischen G_1-Phase befinden.
Schließlich ist auch die Größe der cytoplasmatischen Eiweiß-Synthese in Zellen mit Kernen innerhalb und ausserhalb der S-Phase gleich.
Die zelluläre RNS- und Eiweiß-Stoffwechsel-Situation während der proliferativen Phase des Proliferationsstoffwechsels wird mit einer Neubildung spezifischer, benötigter Proteine gedeutet. Dabei dürften in erster Linie Histone und Nichthiston-Eiweiße der sich reduplizierenden Chromosomen und für die Mitose benötigte cytoplasmatische Spindelproteine eine Rolle spielen.

8. Durch die Doppelmarkierungstechnik können exakt solche Zellen in der proliferativen Phase des Proliferationsstoffwechsels von solchen in der prä- oder postproliferativen Phase separiert werden. Eine Umstellung von der präproliferativen auf die proliferative Stoffwechselsituation erfolgt offensichtlich sprunghaft mit Beginn

der S-Phase, da sich autoradiographisch niemals Übergänge zwischen einfach und doppelt markierten Zellen gefunden haben.

F. TABELLARISCHER ANHANG

	Ø N	F N	V N	Ø Ke	F Ka	V Ka	F Cyt
Kontrollen	2,37	4,41	6,96	7,38	38,35	203,08	261,38
2/3 Teil-hepatektomie	3,68	10,63	26,04	8,75	49,48	324,03	465,30
Steigerungs-faktor	1,55	2,41	3,74	1,19	1,29	1,59	1,78
1/3 Teil-hepatektomie	3,60	10,17	24,38	8,61	48,03	309,13	
Steigerungs-faktor	1,52	2,31	3,50	1,17	1,25	1,52	

Tab.1: Mittlere Durchmesser (Ø), Fläche (F) und Volumen (V) von Nukleolus (N), Gesamtkern (Ke), Karyoplasma (Ka) und Cytoplasma (Cyt) der Leberzelle von Kontroll- und Versuchstieren nach 2/3- und 1/3-Teilhepatektomie mit dem jeweiligen Steigerungsfaktor

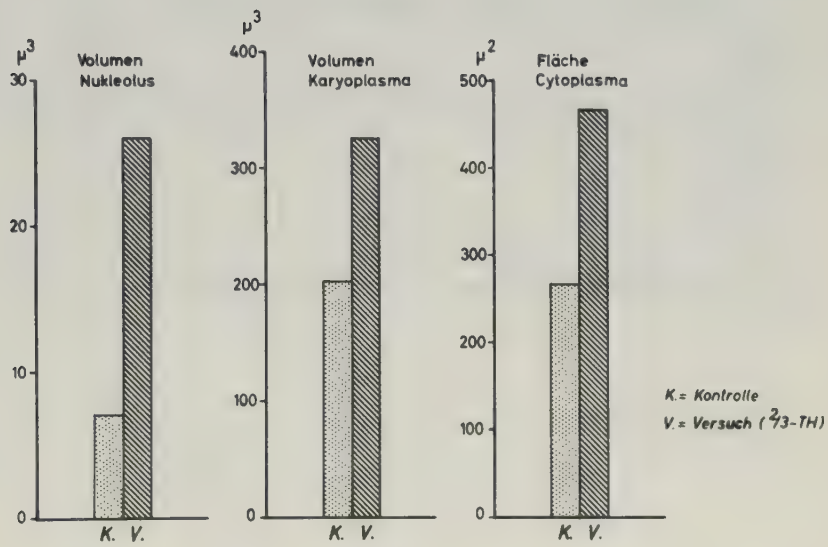


Fig. 1: Mittleres Volumen von Nukleolus und Karyoplasma, sowie mittlere Fläche des Cytoplasmas von Kontrolltieren (K) und Versuchstieren (V.) nach 2/3-Teilhepatektomie

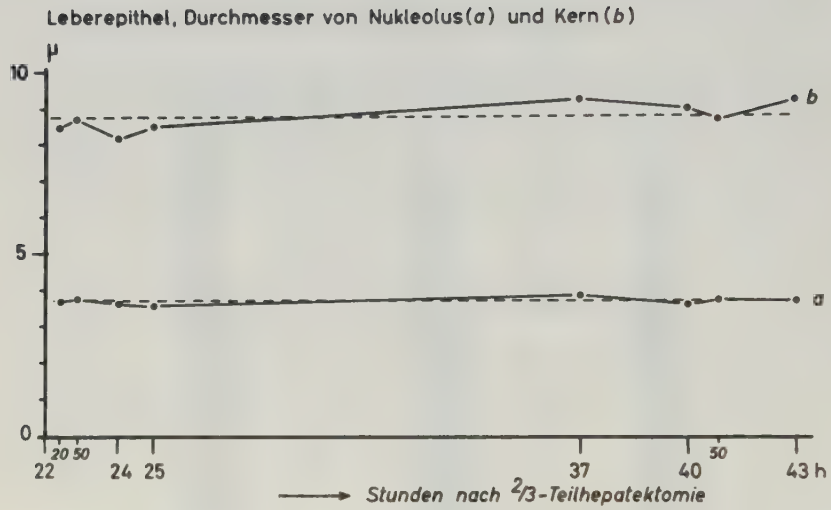


Fig. 2: Mittlere Durchmesser von Nukleolus (a) und Kern (b) als Funktion der Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie (———); Mittelwert der Messungen (---)

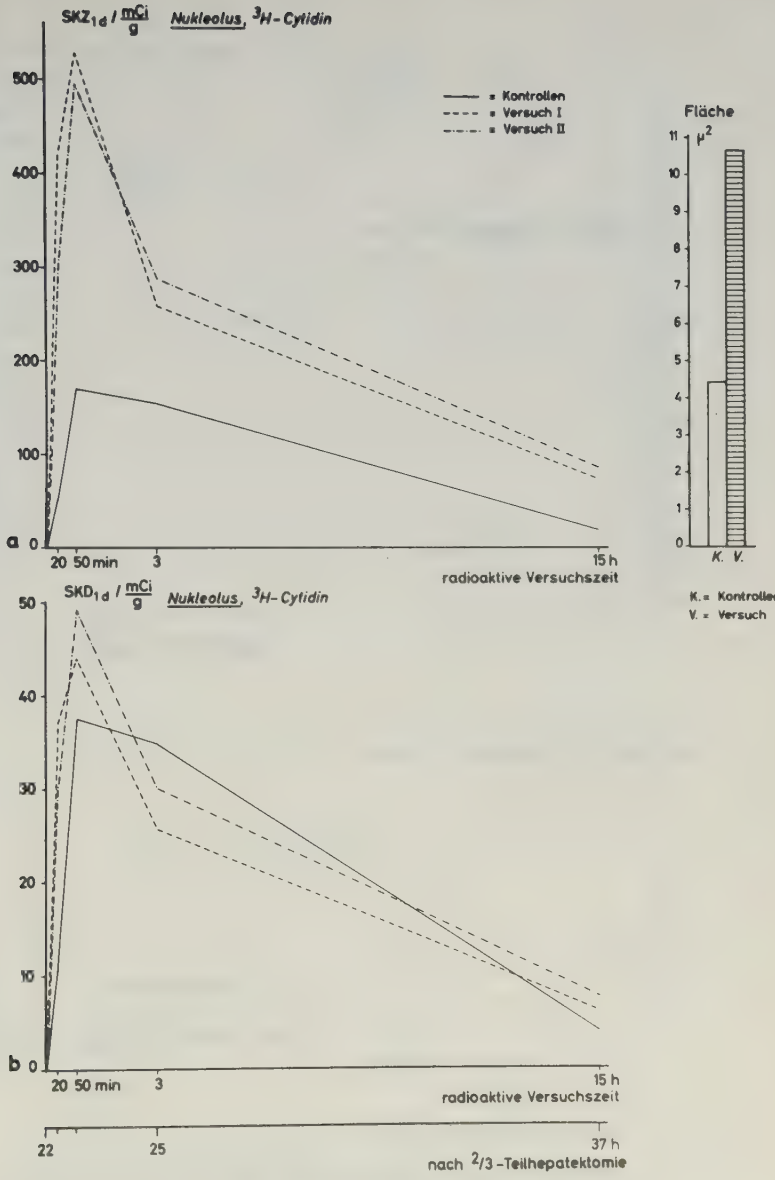


Fig. 3: ^{3}H-Cytidin. Mittlere korrigierte Silberkornzahl ($SKZ_{1d}/\frac{mCi}{g}$) = a, mittlere korrigierte Silberkorndichte ($SKD_{1d}/\frac{mCi}{g}$) = b für den Nukleolus. Kontrollen (———) und 2 Versuchsserien (--- und .-.-.-) als Funktion der radioaktiven Versuchszeit mit zusätzlich aufgetragener Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie. Rechts in der Figur die durchschnittliche Fläche der Nukleolen: K. = Kontrollen, V. = Versuchstiere nach 2/3-Teilhepatektomie

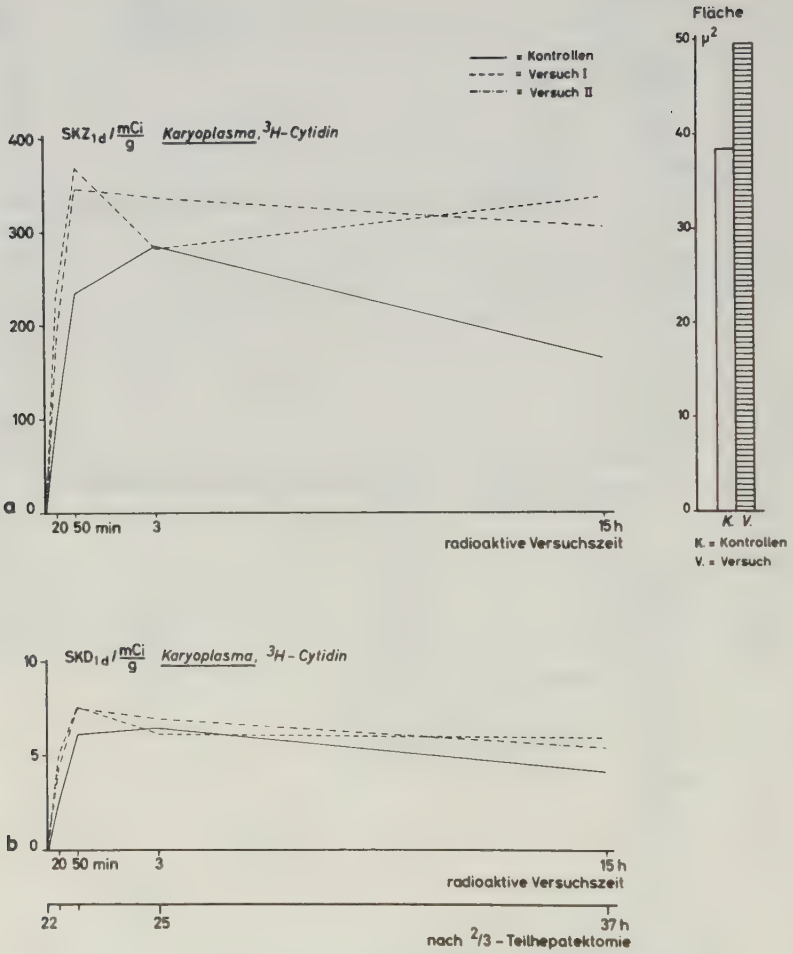


Fig. 4: ^{3}H-Cytidin. Mittlere korrigierte Silberkornzahl ($SKZ_{1d}/\frac{mCi}{g}$) = a, mittlere korrigierte Silberkorndichte ($SKD_{1d}/\frac{mCi}{g}$) = b für das Karyoplasma. Kontrollen (——) und 2 Versuchsserien (--- und .-.-.-) als Funktion der radioaktiven Versuchszeit mit zusätzlich aufgetragener Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie. Rechts in der Figur die durchschnittliche Fläche des Karyoplasma: K. = Kontrollen, V. = Versuchstiere nach 2/3-Teilhepatektomie

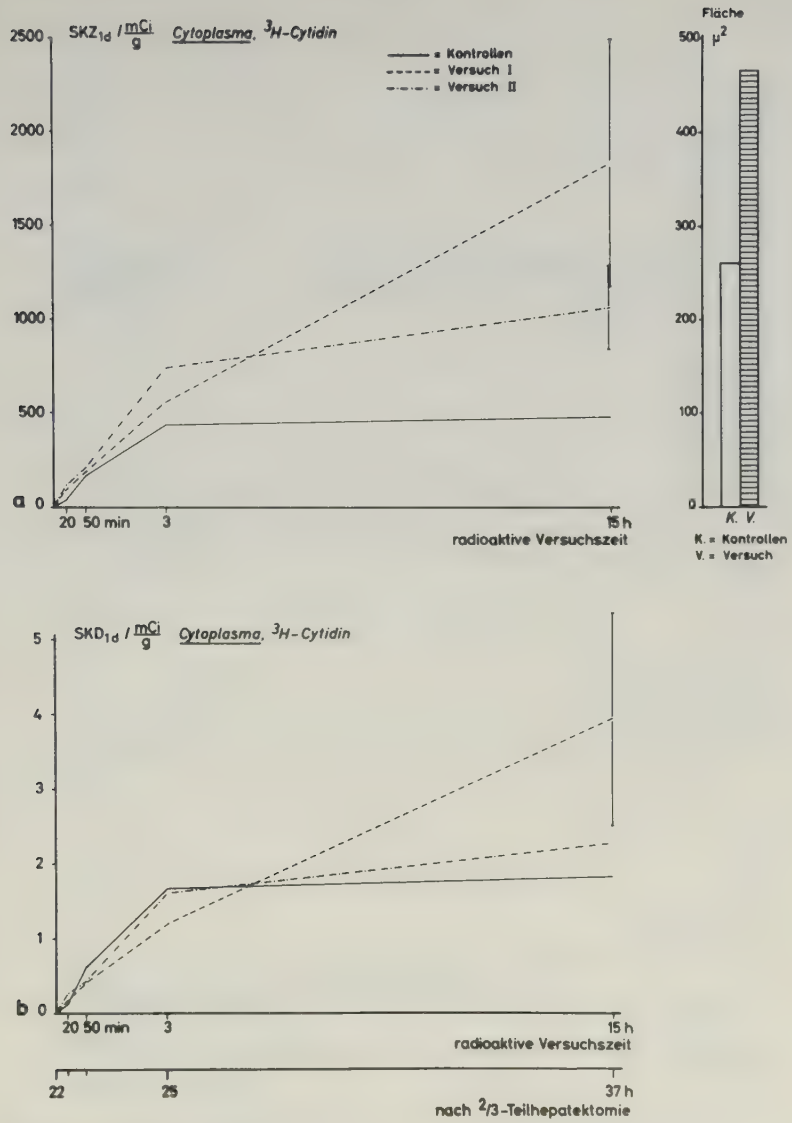


Fig. 5: ^{3}H-Cytidin. Mittlere korrigierte Silberkornzahl ($SKZ_{1d}/\frac{mCi}{g}$) = a, mittlere korrigierte Silberkorndichte ($SKD_{1d}/\frac{mCi}{g}$) = b für das Cytoplasma. Kontrollen (———) und 2 Versuchsserien (--- und .-.-.-) als Funktion der radioaktiven Versuchszeit mit zusätzlich aufgetragener Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie. Rechts in der Figur die durchschnittliche Fläche des Cytoplasmas: K. = Kontrollen, V. = Versuchstiere nach 2/3-Teilhepatektomie

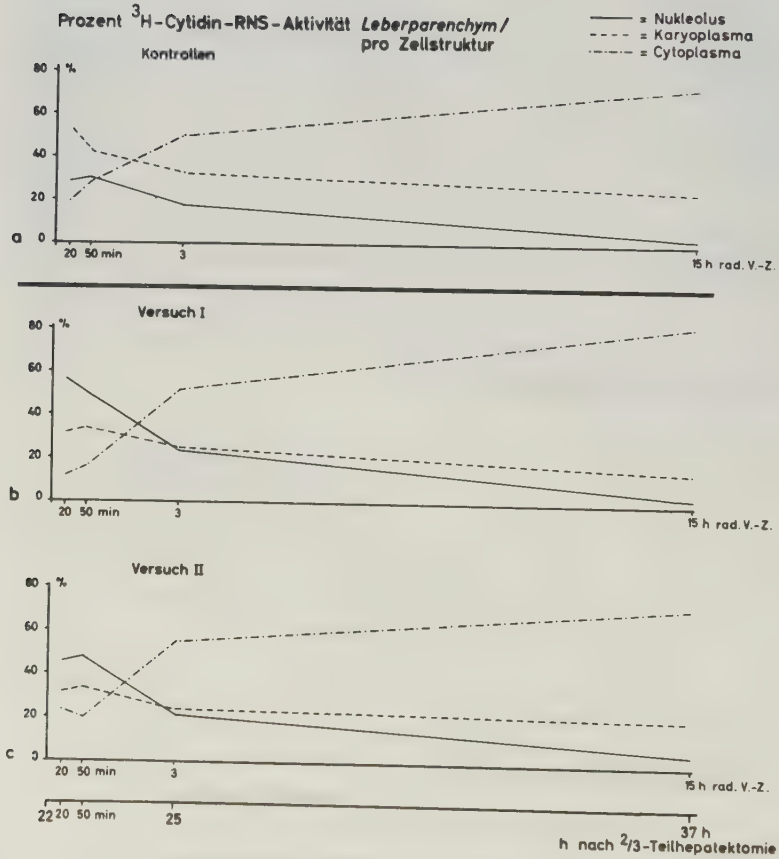


Fig. 6: Mittlerer Prozentsatz der ^{3}H-Cytidin-RNS-Aktivität pro Zellstruktur (Schnittfläche; Nukleolus ———, Karyoplasma ---, Cytoplasma .-.-.-) als Funktion der radioaktiven Versuchszeit und der Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie für Kontrollen (a) und 2 Versuchsserien (b und c)

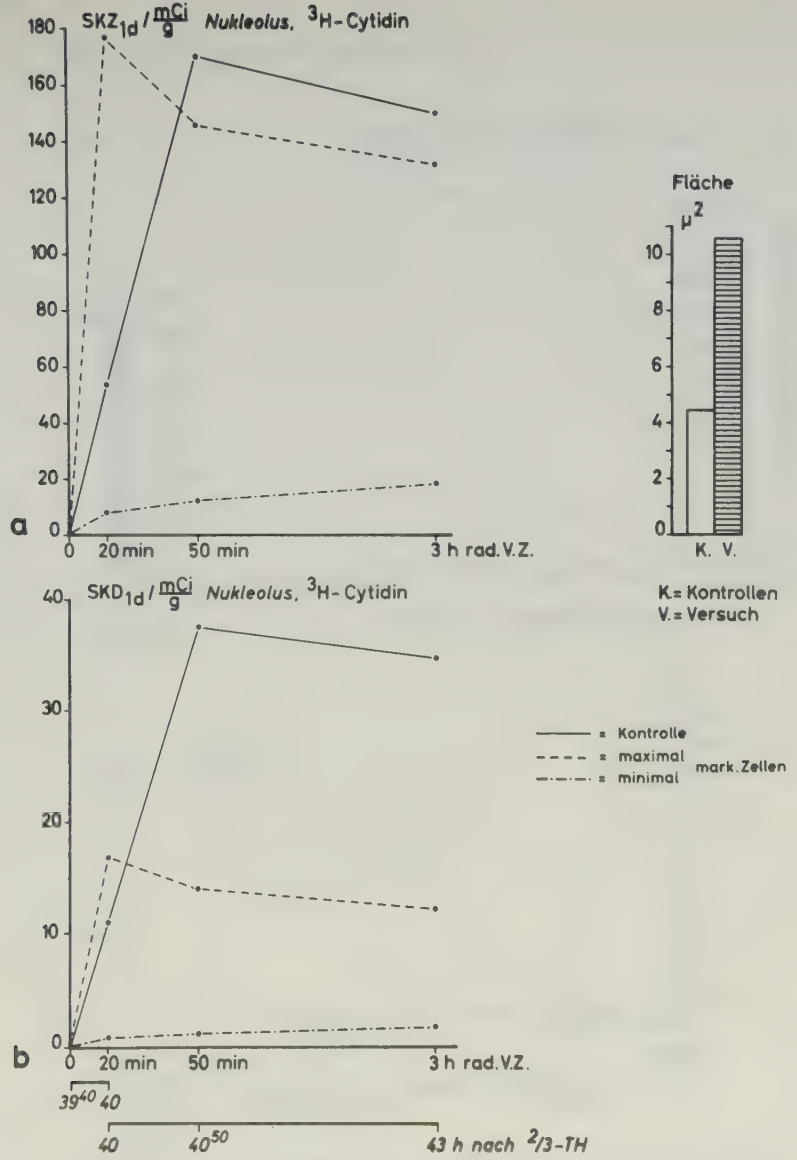


Fig. 7: ^{3}H-Cytidin. Mittlere korrigierte Silberkornzahl ($SKZ_{1d}/\frac{mCi}{g}$) = a, mittlere korrigierte Silberkorndichte ($SKD_{1d}/\frac{mCi}{g}$) = b für den Nukleolus. Kontrollen (———), maximal (---) und minimal (.-.-.-) markierte Zellen der Versuchstiere als Funktion der radioaktiven Versuchszeit mit zusätzlich aufgetragener Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie. Rechts im Bild der Figur die durchschnittliche Fläche der Nukleolen: K. = Kontrollen, V. = Versuchstiere nach 2/3-Teilhepatektomie

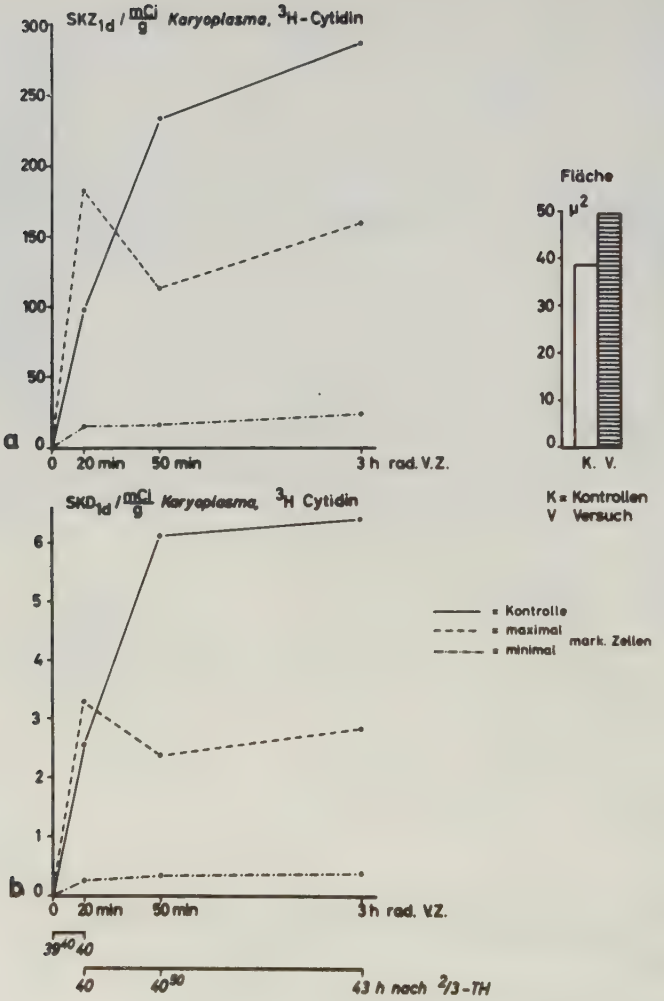


Fig. 8: ^{3}H-Cytidin. Mittlere korrigierte Silberkornzahl ($SKZ_{1d}/\frac{mCi}{g}$) = a, mittlere korrigierte Silberkorndichte ($SKD_{1d}/\frac{mCi}{g}$) = b für das Karyoplasma. Kontrollen (———) maximal (---) und minimal (.-.-.-) markierte Zellen der Versuchstiere als Funktion der radioaktiven Versuchszeit mit zusätzlich aufgetragener Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie. Rechts im Bild der Figur die durchschnittliche Fläche des Karyoplasmas: K. = Kontrollen, V.= Versuchstiere nach 2/3-Teilhepatektomie

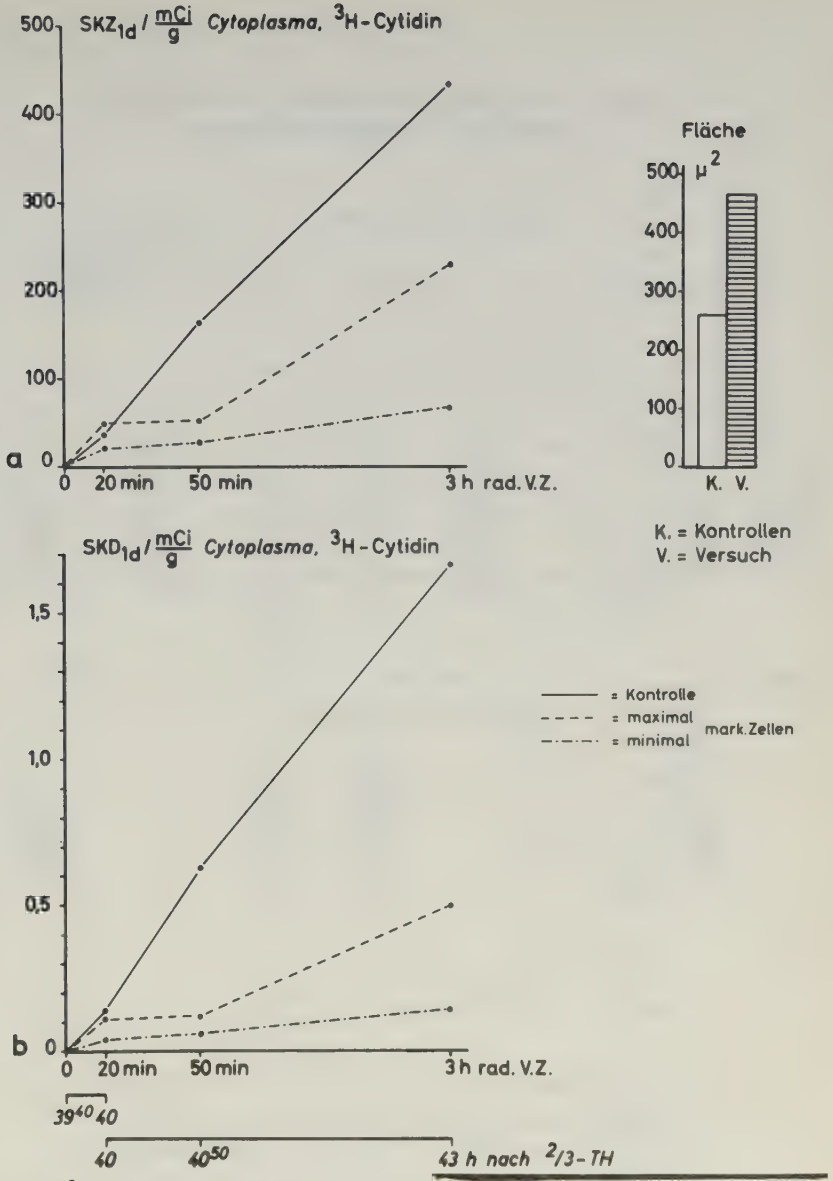


Fig. 9: ^{3}H-Cytidin. Mittlere korrigierte Silberkornzahl ($SKZ_{1d}/\frac{mCi}{g}$) = a, mittlere korrigierte Silberkorndichte ($SKD_{1d}/\frac{mCi}{g}$) = b für das Cytoplasma. Kontrollen (——), maximal (---) und minimal (.-.-.-) markierte Zellen der Versuchstiere als Funktion der radioaktiven Versuchszeit mit zusätzlich aufgetragener Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie. Rechts im Bild der Figur die durchschnittliche Fläche des Cytoplasmas: K. = Kontrollen, V. = Versuchstiere nach 2/3-Teilhepatektomie

Prozent ^{3}H-Cytidin-RNS-Aktivität pro Zellstruktur
Ende der 1. Regenerationswelle

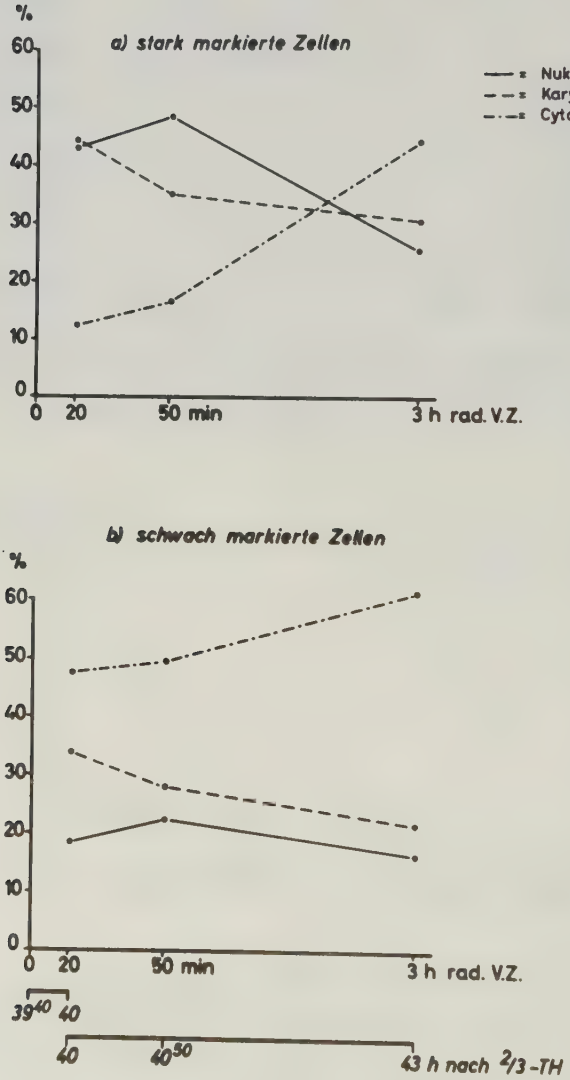


Fig. 10: Mittlerer Prozentsatz der ^{3}H-Cytidin-RNS-Aktivität pro Zellstruktur (Schnittfläche; Nukleolus ——— , Karyoplasma --- , Cytoplasma .-.-.-) als Funktion der radioaktiven Versuchszeit und der Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie für stark markierte und schwach markierte Zellen.

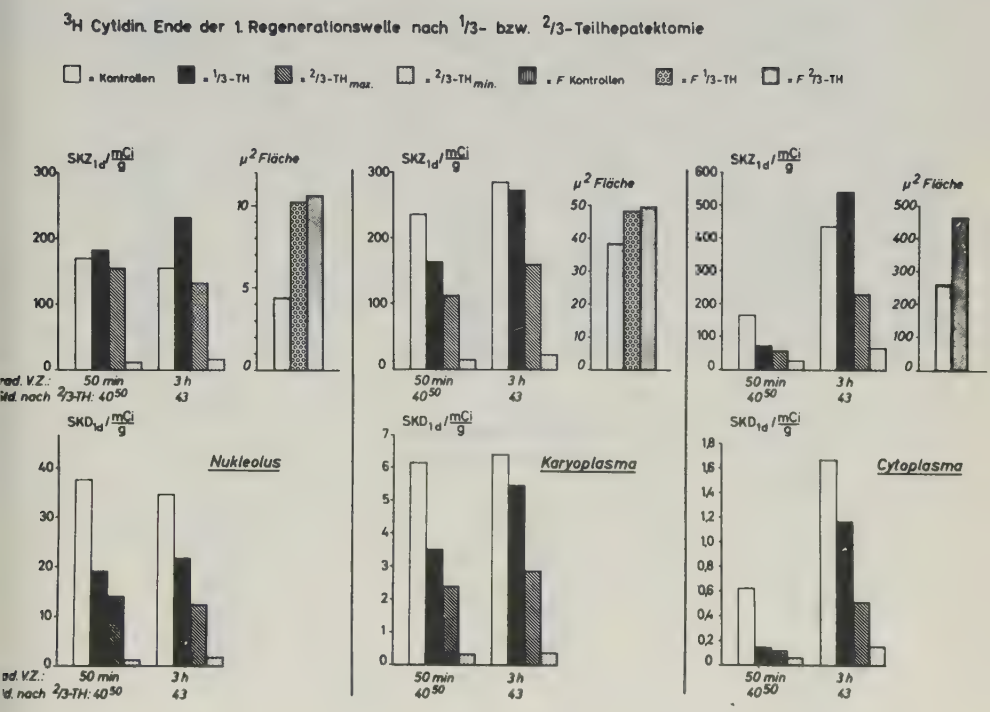


Fig. 11: ^{3}H-Cytidin. Mittlere korrigierte Silberkornzahl ($SKZ_{1d}/\frac{mCi}{g}$) (obere Reihe) und mittlere korrigierte Silberkorndichte ($SKD_{1d}/\frac{mCi}{g}$) (untere Reihe), sowie mittlere Fläche für Nukleolus (links in der Figur), Karyoplasma (Mitte der Figur) und Cytoplasma (rechts in der Figur) für Kontrollen und Versuchstiere nach 1/3-Teilhepatektomie (1/3-TH) und für stark markierte ($2/3\text{-}TH_{max.}$) und schwach markierte ($2/3\text{-}TH_{min.}$) Zellen der 2/3-Teilhepatektomie-Serie am Ende der 1. Regenerationswelle mit zusätzlich aufgetragener radioaktiver Versuchszeit und Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie

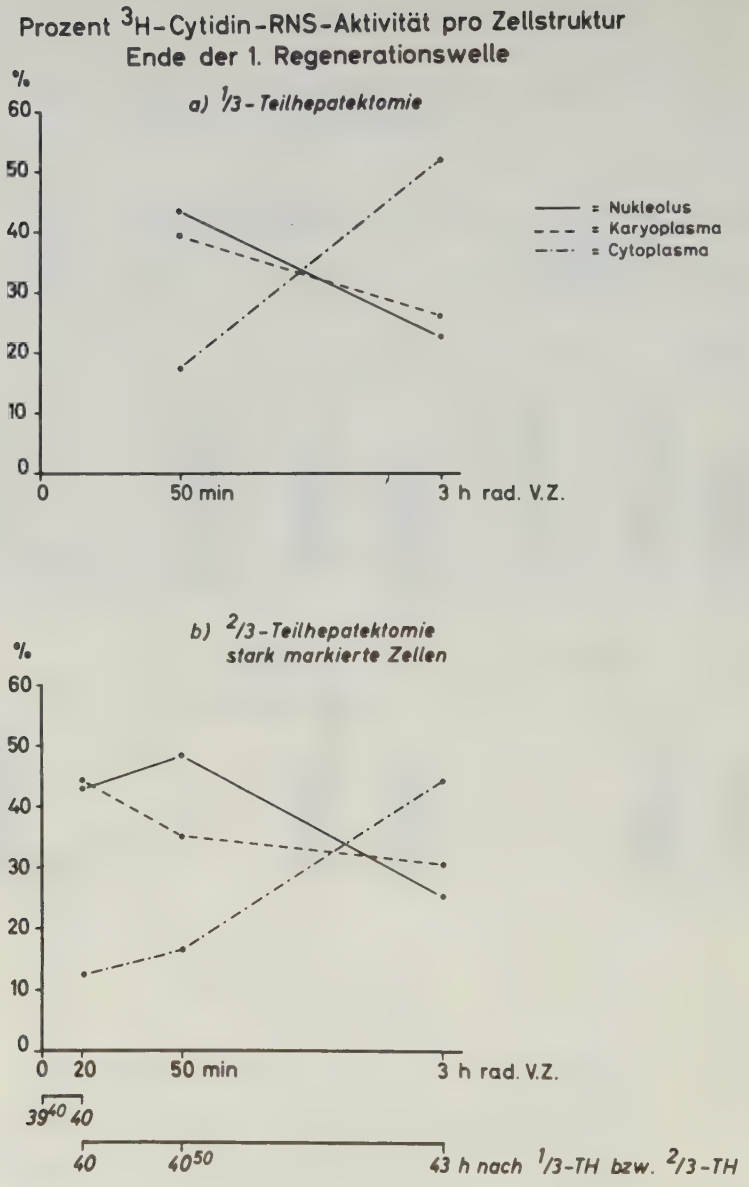


Fig. 12: Mittlerer Prozentsatz der ^{3}H-Cytidin-RNS-Aktivität pro Zellstruktur (Schnittfläche; Nukleolus ——, Karyoplasma --- , Cytoplasma .-.-.-) als Funktion der radioaktiven Versuchszeit (rad. V.Z.) und zusätzlich aufgetragener Zeit nach 1/3- bzw. 2/3-Teilhepatektomie (1/3- bzw. 2/3-TH) a) 1/3-Teilhepatektomie, b) 2/3-Teilhepatektomie (stark markierte Zellen)

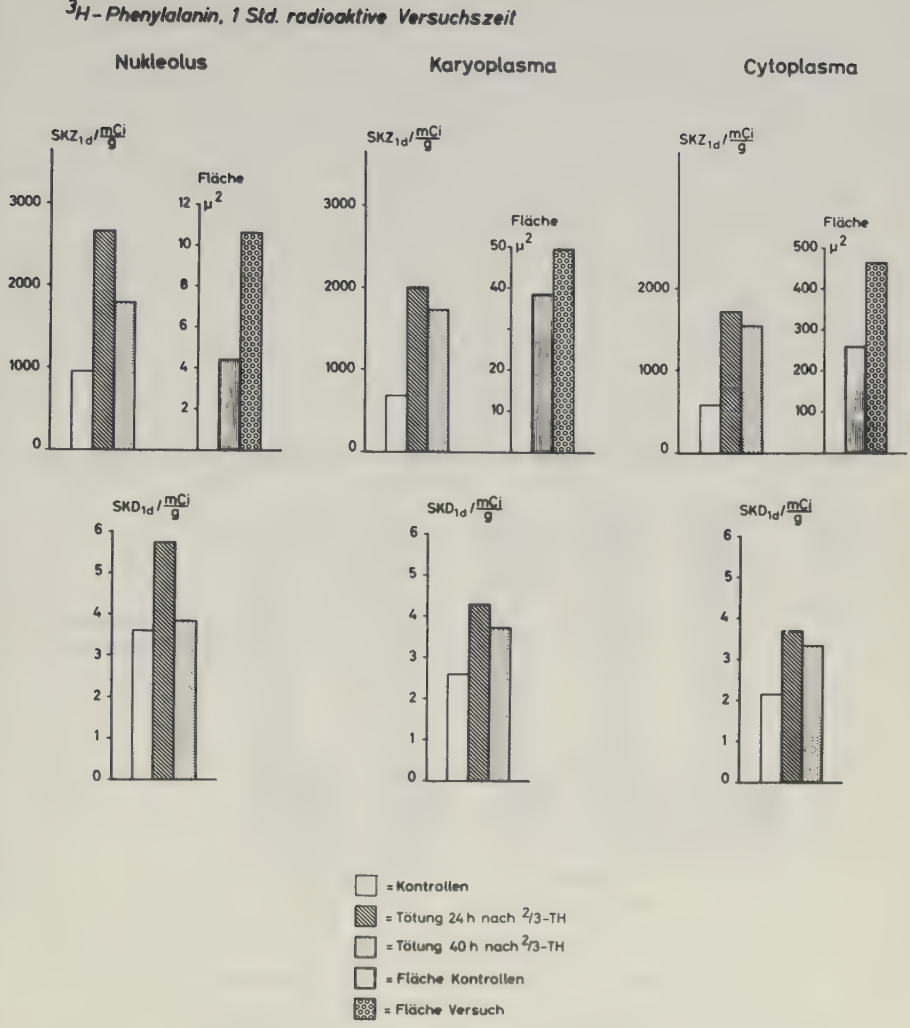


Fig. 13: ^{3}H-l-Phenylalanin. Mittlere korrigierte Silberkornzahl ($SKZ_{1d}/\frac{mCi}{g}$) (obere Reihe) und mittlere korrigierte Silberkorndichte ($SKD_{1d}/\frac{mCi}{g}$) (untere Reihe), sowie mittlere Fläche für Nukleolus (links in der Figur), Karyoplasma (Mitte der Figur) und Cytoplasma (rechts in der Figur) von Kontrollen und Versuchstieren bei jeweils 1 Std. radioaktiver Versuchszeit. Tötungszeit nach Teilhepatektomie 24 und 40 Stunden

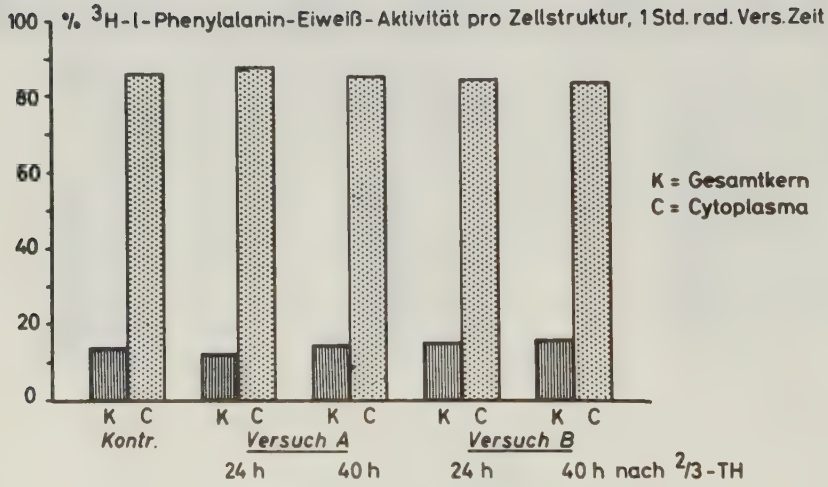


Fig. 14: Prozentsatz der ^{3}H-l-Phenylalanin-Eiweiß-Aktivität von Gesamtkern (K) und Cytoplasma (C) an der Gesamtaktivität für Kontrollen (Kontr.) und 2 Versuchsserien (Versuch A und Versuch B) bei jeweils 1 Std. radioaktiver Versuchszeit. Tötungszeit in beiden Versuchsserien 24 und 40 Stunden nach 2/3-Teilhepatektomie

Kontrollen	Versuch A		Versuch B	
6,14	7,08	5,84	5,47	5,21
Std. nach 2/3-TH	24	40	24	40

Tab. 2: Quotient mittlere SKZ Cytoplasma / mittlere SKZ Gesamtkern für Leberepithelien von Kontrollen und 2 Versuchsserien nach 2/3-Teilhepatektomie (2/3-TH) bei jeweils 1 Std. radioaktiver Versuchszeit (^{3}H-l-Phenylalanin)

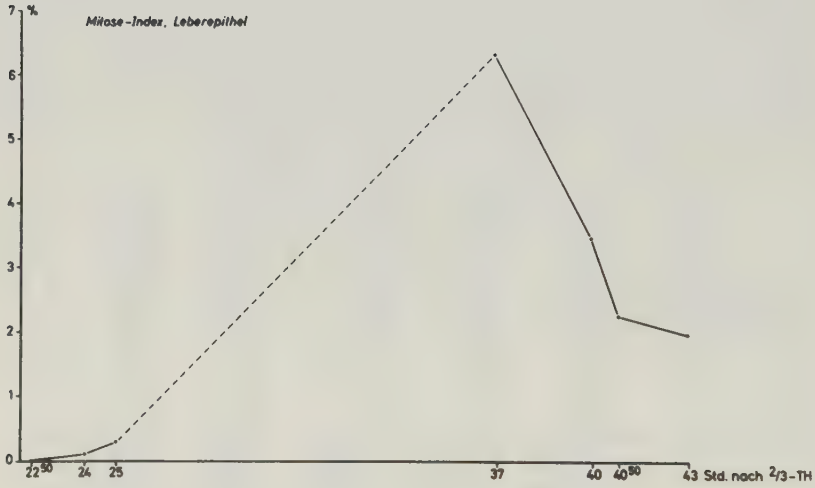


Fig. 15: Mitose-Index in Prozent als Funktion der Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie (2/3-TH). Die gestrichelte Linie bezeichnet den nicht untersuchten Zeitintervall

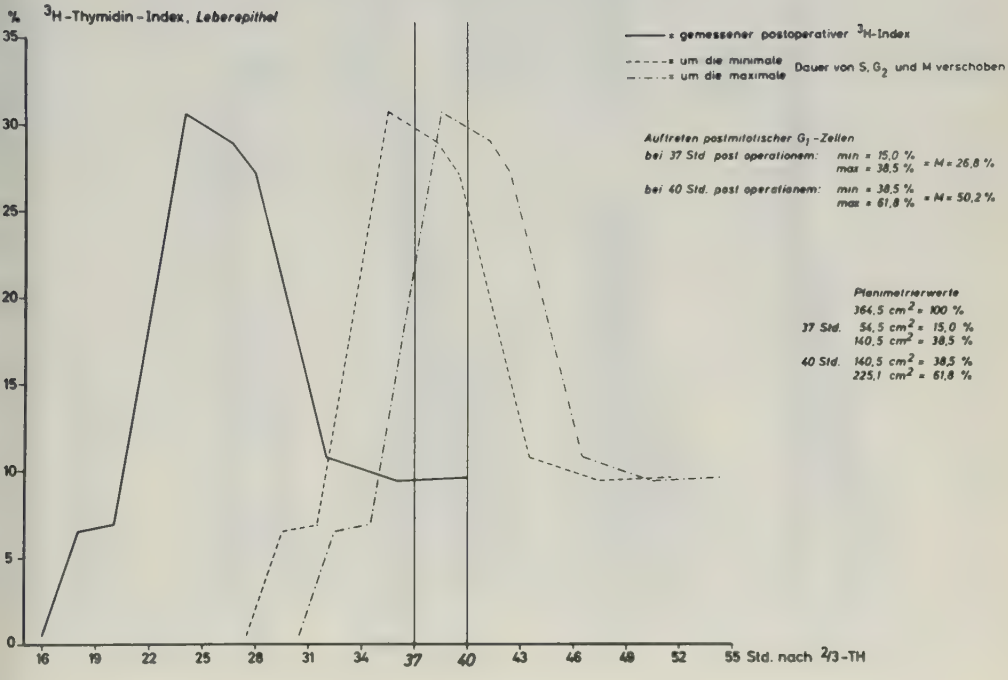


Fig. 16: ^{3}H-Thymidin-Index gemessen (———) (aus STÖCKER 1966 und HÖPER 1968) und um die minimale (---) und maximale (.-.-.-) Dauer von S, G_2 und M verschoben. Zusätzlich aufgetragener Prozentsatz der bei 37 und 40 Stunden nach 2/3-Teilhepatektomie (theoretisch) aufgetretenen postmitotischen G_2-Zellen

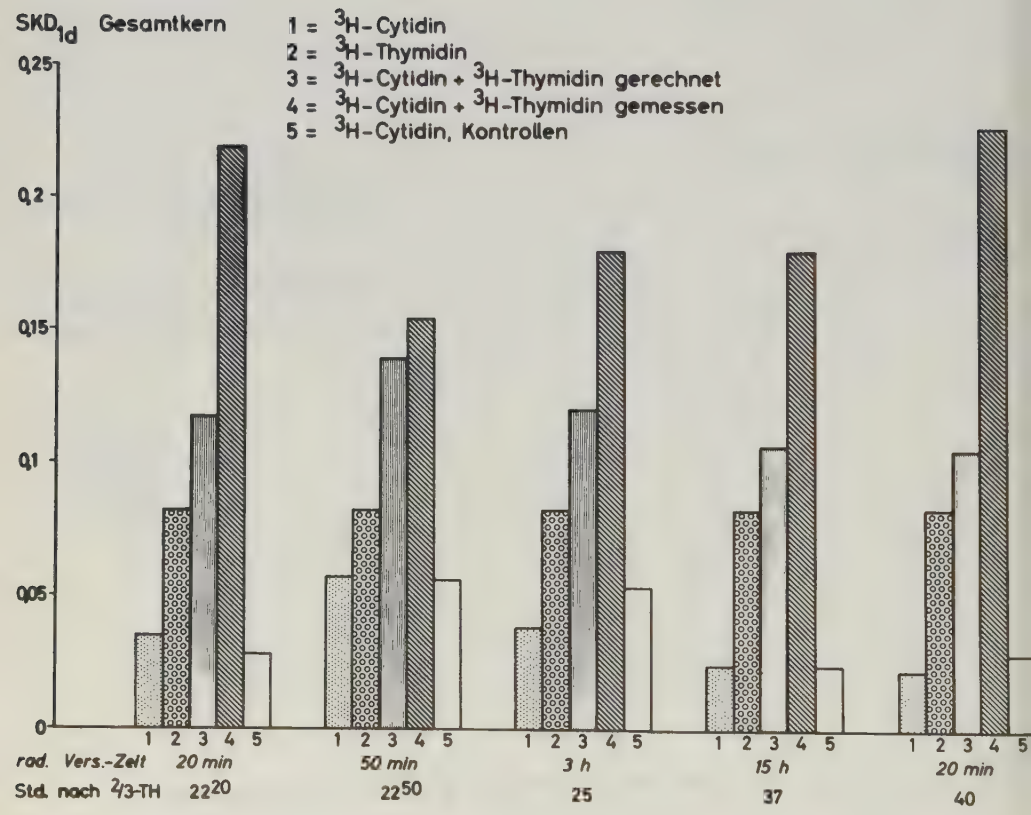


Fig. 17: Auf 1 Tag Expositionszeit umgerechnete Silberkorndichte für den Gesamtkern (Karyoplasma + Nukleolus) für ^{3}H-Cytidin, ^{3}H-Thymidin, die theoretisch errechnete und die gemessene Summe aus ^{3}H-Cytidin und ^{3}H-Thymidin von Versuchstieren, sowie für ^{3}H-Cytidin von Kontrollen mit aufgetragener radioaktiver Versuchszeit und Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie

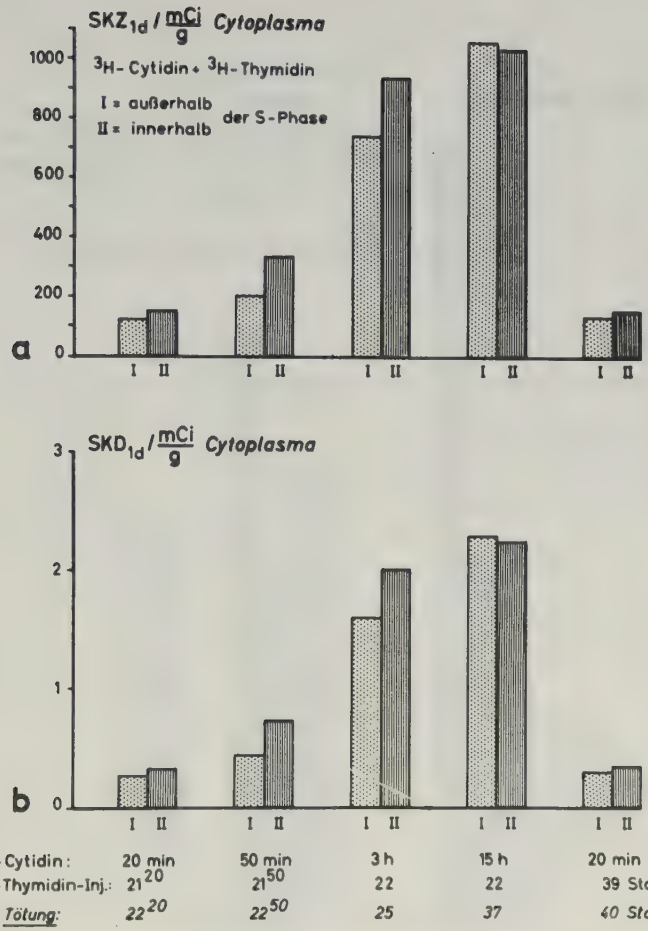


Fig. 18: Vergleich der korrigierten Silberkornzahlen (a) und Silberkorndichten (b) von ^{3}H-Cytidin im Cytoplasma von Zellen außerhalb und innerhalb (zusätzlich ^{3}H-Thymidin-Applikation) der S-Phase

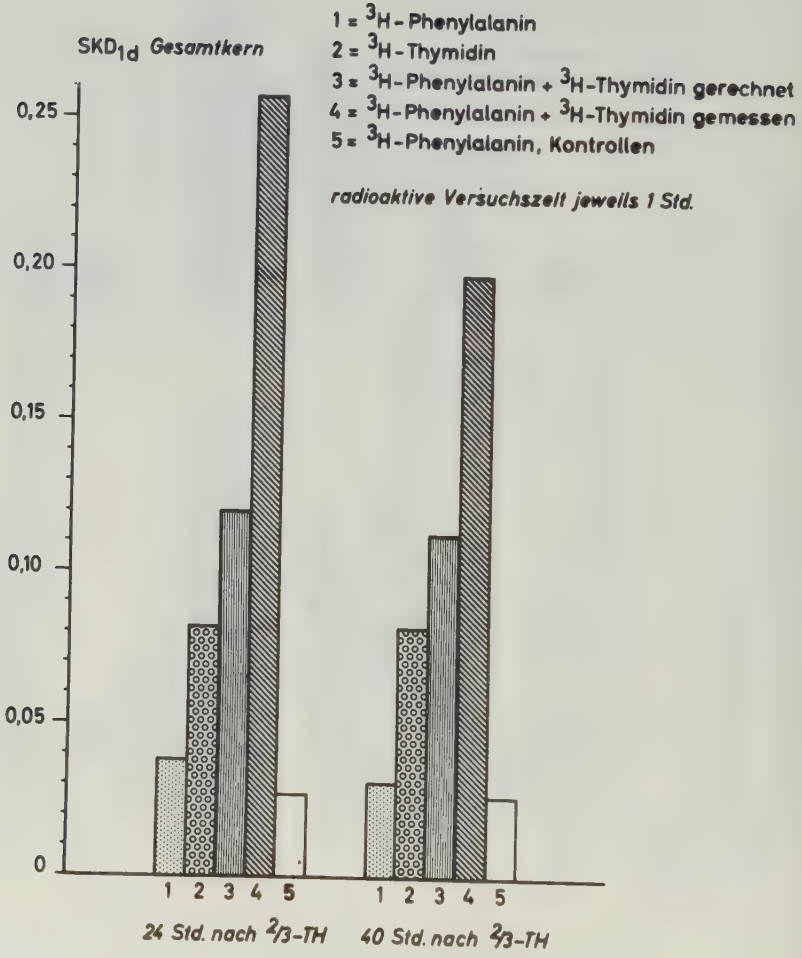


Fig. 19: Auf 1 Tag Expositionszeit umgerechnete Silberkorndichte für den Gesamtkern (Karyoplasma + Nukleolus) für ^{3}H-l-Phenylalanin, ^{3}H-Thymidin, die theoretisch errechnete und die gemessene Summe aus ^{3}H-l-Phenylalanin und ^{3}H-Thymidin von Versuchstieren, sowie für ^{3}H-l-Phenylalanin von Kontrollen mit aufgetragener radioaktiver Versuchszeit und Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie

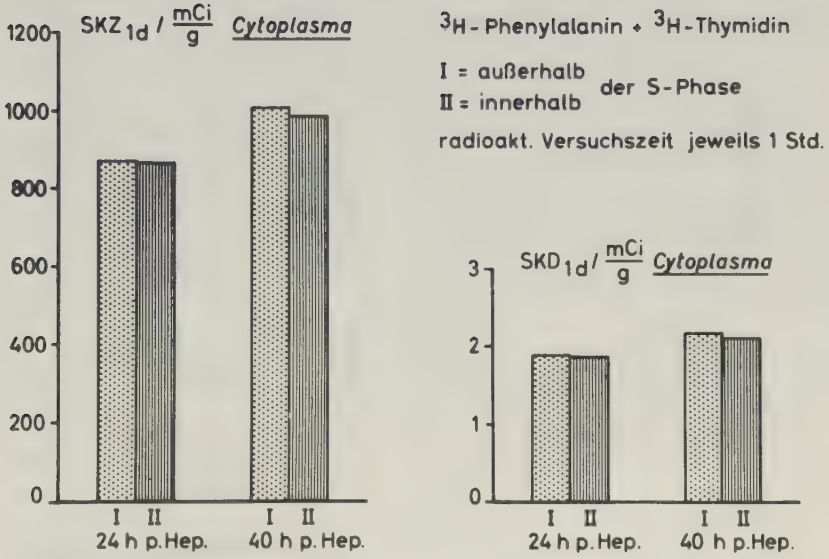


Fig. 20: Vergleich der korrigierten Silberkornzahlen (a) und Silberkorndichten (b) von ^{3}H-l-Phenylalanin im Cytoplasma von Zellen außerhalb und innerhalb (zusätzlich ^{3}H-Thymidin-Applikation) der S-Phase

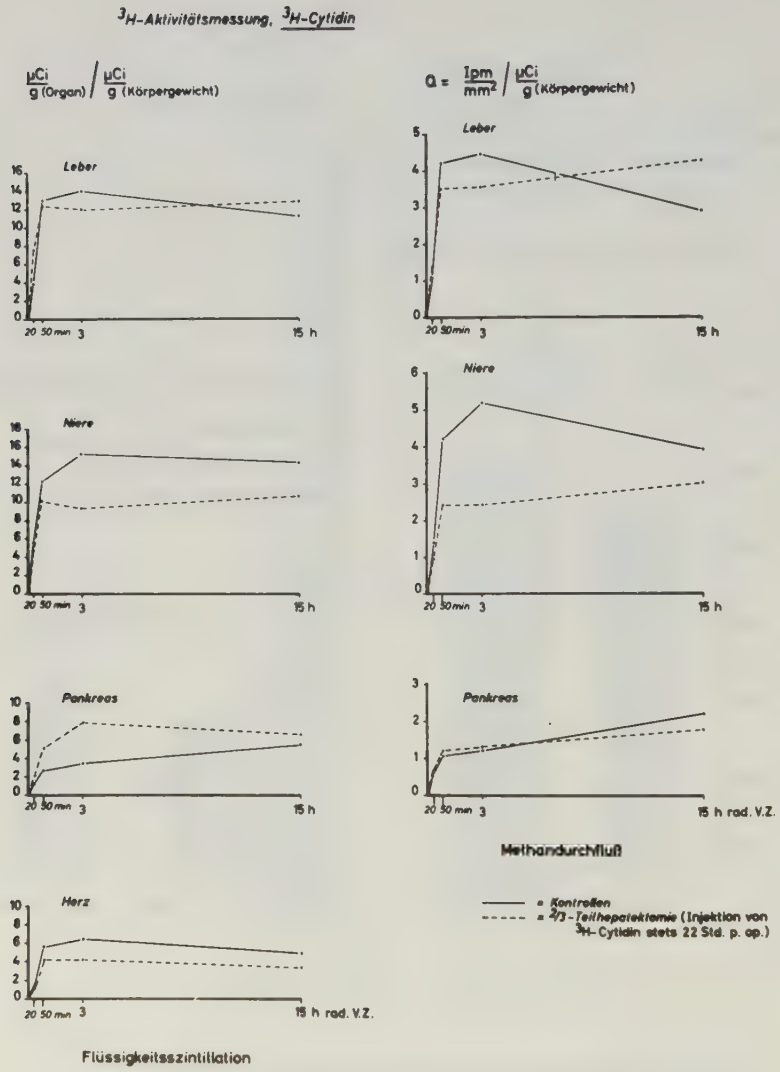


Fig. 21: ^{3}H-Cytidin-Aktivitätsmessungen: Flüssigkeitsszintillationszähler (links) und Methandurchflußzähler (rechts). Versuchsorgan (Leber) und Referenzorgane (Niere, Pankreas, Herz) für Kontrollen und Versuchstiere als Funktion der radioaktiven Versuchszeit. (Kontrollen ——— , 2/3-Teilhepatektomie ----)

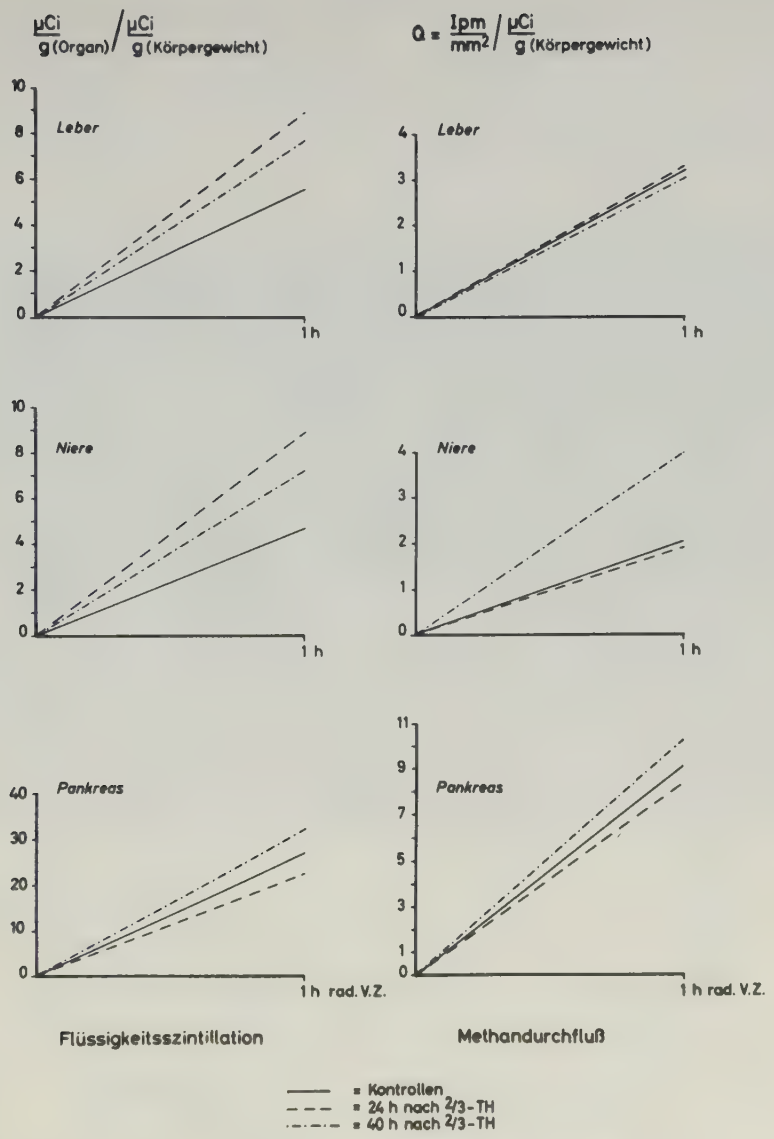


Fig. 22: ^3H-l-Phenylalanin-Aktivitätsmessungen: Flüssigkeitsszintillationszähler (links) und Methandurchflußzähler (rechts). Versuchsorgan (Leber) und Referenzorgane (Niere, Pankreas, Herz) für Kontrollen (———) und 2 Versuchsserien (--- = 24 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie; .-.-.- = 40 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie) als Funktion der radioaktiven Versuchszeit

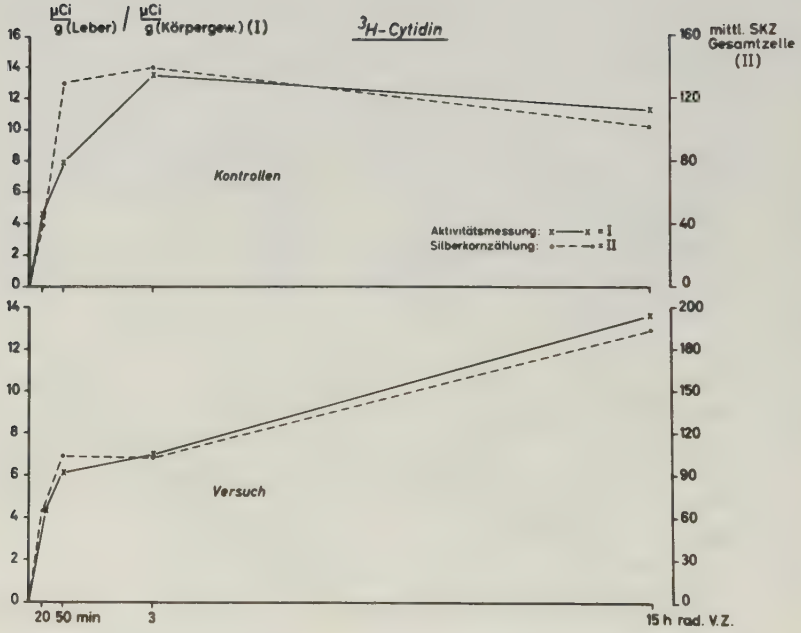


Fig. 23: ^{3}H-Cytidin. Vergleich der Aktivitätsmessungen (x —— x) mit den Silberkornzählungen (.---.) bei Kontrollen und Versuchstieren.

Linke Ordinate = $\frac{\mu Ci}{g(Leber)} / \frac{\mu Ci}{g}$ (applizierte Akt.) (Körpergewicht)

Rechte Ordinate = Mittlere Silberkornzahl der Gesamtzelle

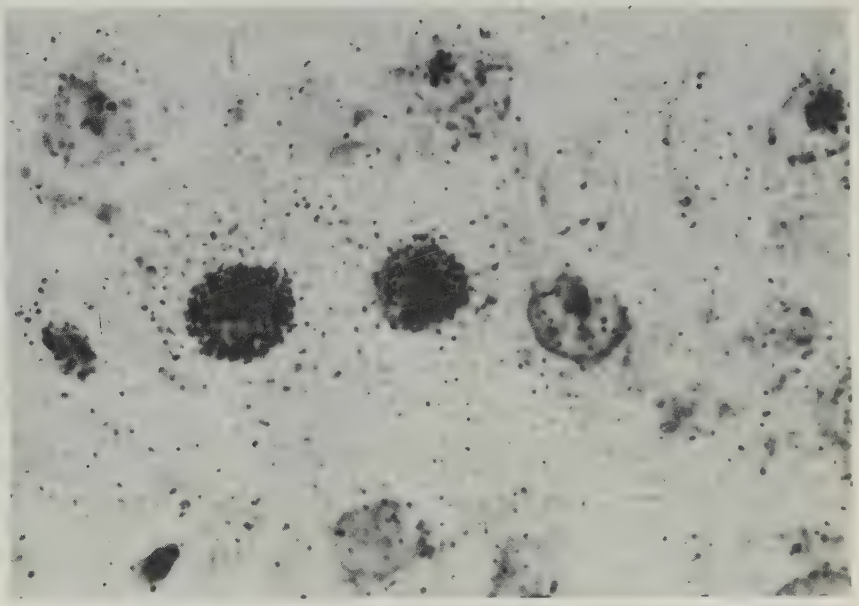


Abb. 1: Nachgefärbtes Autoradiogramm, Rattenleber, simultane Injektion von ^{3}H-Cytidin + ^{3}H-Thymidin 22 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie, Tötung 3 Std. später. Einige Kerne mit nur sehr geringer Silberkornzahl, d.h. mit alleiniger ^{3}H-Cytidin-Inkorporation. 2 intensiv geschwärzte Kerne mit Inkorporation beider Vorläufer in der S-Phase. Deutliches Markierungsgefälle von den doppelt markierten zu den einfach markierten Kernen

Vergrößerung 1:1500

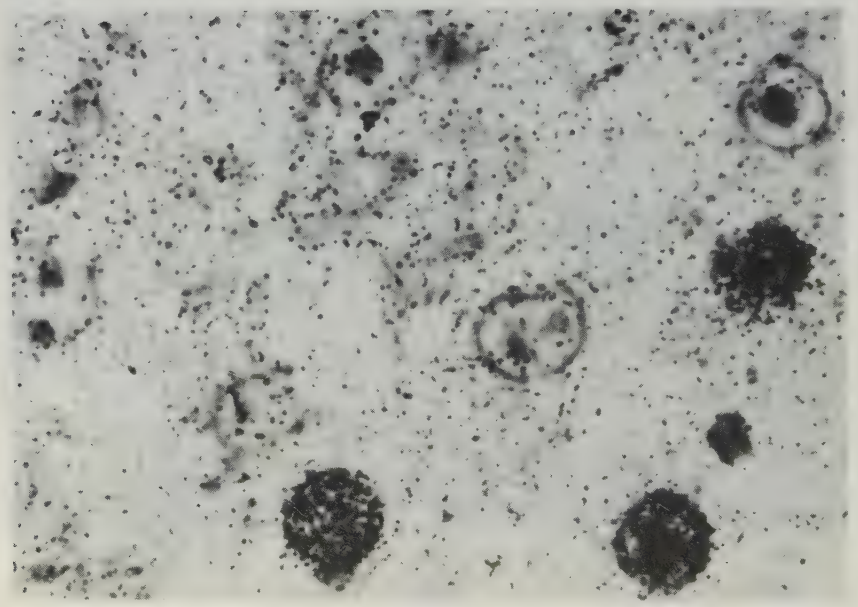


Abb. 2: Nachgefärbtes Autoradiogramm, Rattenleber, simultane Injektion von ^{3}H-l-Phenylalanin + ^{3}H-Thymidin 23 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie, Tötung 1 Std. später. Einige Kerne mit nur sehr geringer Silberkornzahl, d. h. mit alleiniger ^{3}H-l-Phenylalanin-Inkorporation. 3 intensiv geschwärzte Kerne mit Inkorporation beider Vorläufer in der S-Phase. Deutliches Markierungsgefälle von den doppelt markierten zu den einfach markierten Kernen

Vergrößerung 1:1500

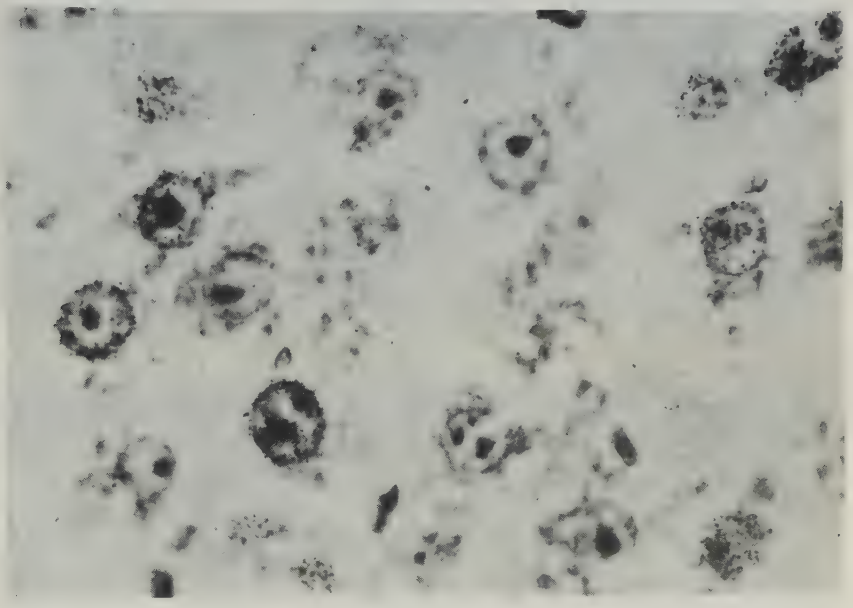
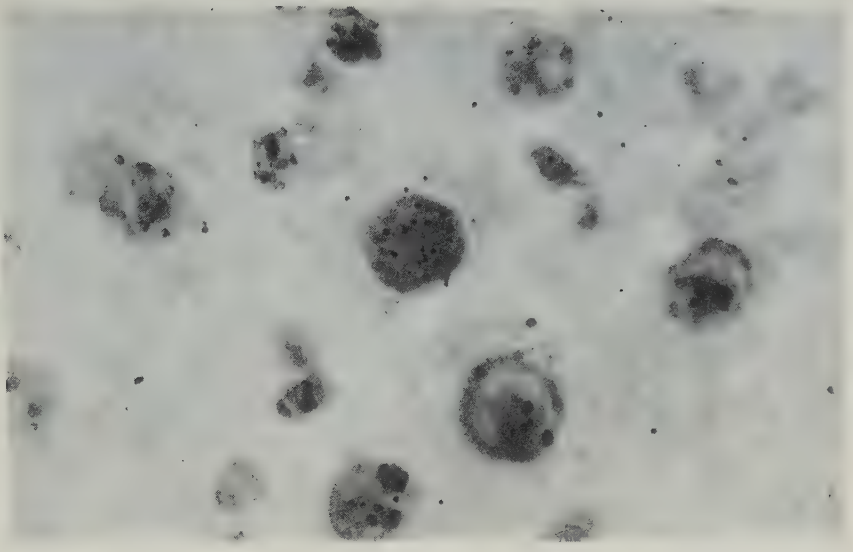


Abb. 3: Nachgefärbtes Autoradiogramm, Rattenleber, einmalige Injektion von ^{3}H-Thymidin allein 23 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie, Tötung 1 Std. später. Relativ große Zahl DNS-synthetisierender Leberepithelzellen mit verhältnismäßig geringer Silberkornzahl

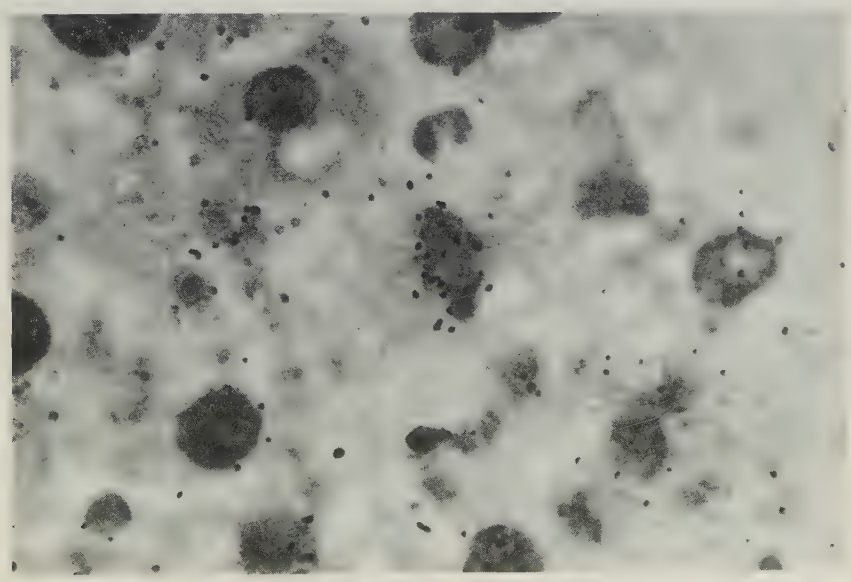
Vergrößerung 1:960

Abb. 4 a-d: Nachgefärbte Autoradiogramme, Rattenleber, einmalige Injektion von ^{3}H-Cytidin 40 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie, Tötung 50 Min. später.
Markierte Mitosen in allen Stadien:
a) Prophase
b) Metaphase
c) Anaphase
d) in Bildmitte links Telophase, in Bildmitte rechts markierte pathologische Mitose. In der Telophase angenäherte Halbierung der Silberkornzahl im Vergleich zu den übrigen markierten Mitosen

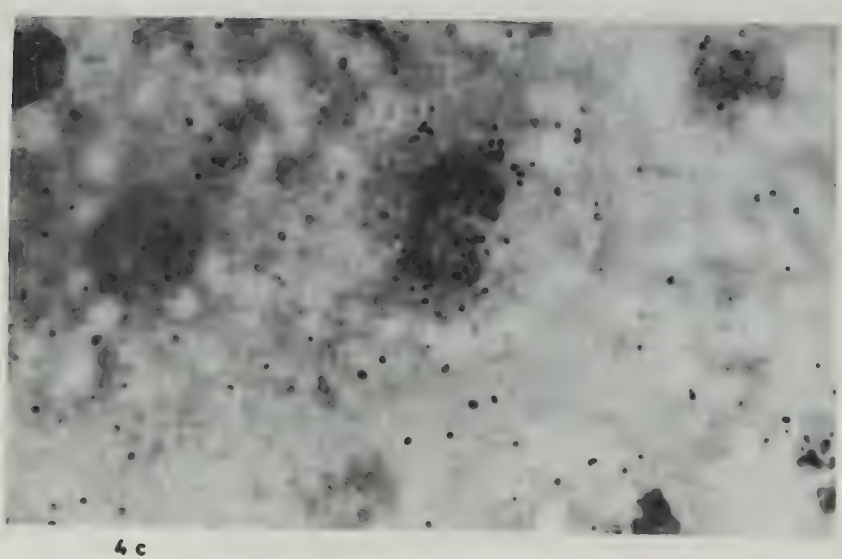
Vergrößerungen a-c 1:1500, d 1:960



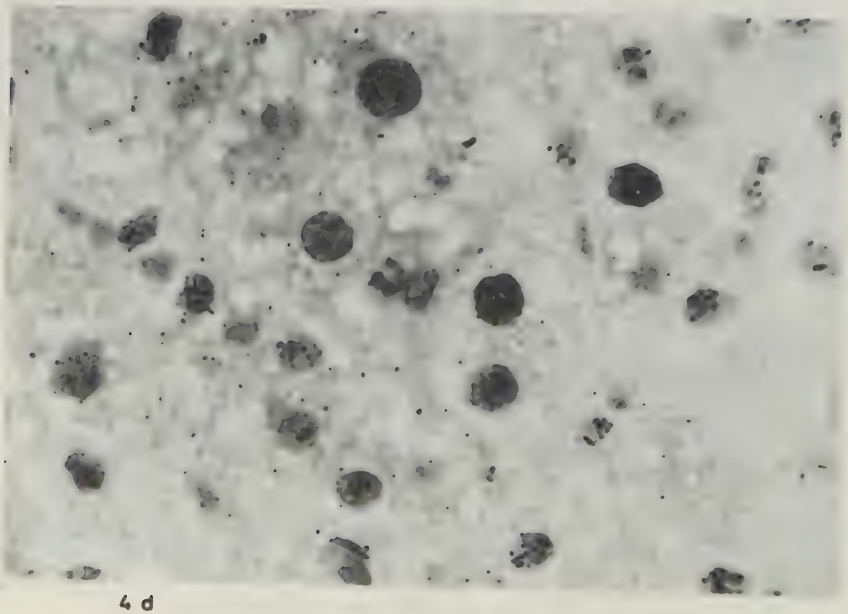
4a



4 b



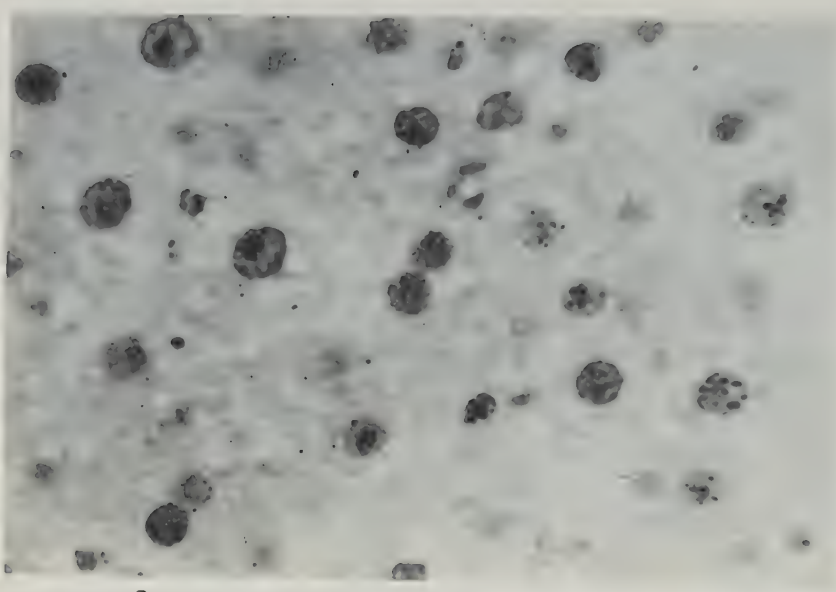
4 c



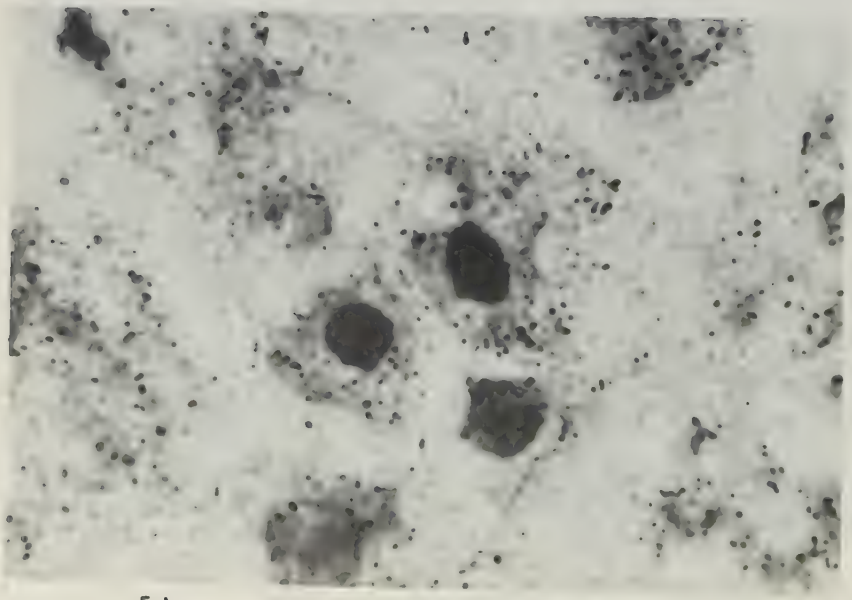
4 d

Abb. 5 a-c: Nachgefärbte Autoradiogramme, Rattenleber.
a) Einmalige Injektion von ^{3}H-Cytidin 40 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie, Tötung 50 Min. später. Etwa gleich starke Markierung über den Kernen der Telophase in Bildmitte.
b + c) Injektion von ^{3}H-Cytidin + ^{3}H-Thymidin 22 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie, Tötung 15 Std. später.
b: In Bildmitte 2 Zellen in später Telophase mit nahezu identischer Aufteilung der Markierung auf das Cytoplasma beider Tochterzellen.
c: Gleicher Effekt wie in b, in der Telophase rechts in Bildmitte; in Bildmitte und links oben stark, d.h. doppelt markierte (^{3}H-Cytidin + ^{3}H-Thymidin) Mitosen

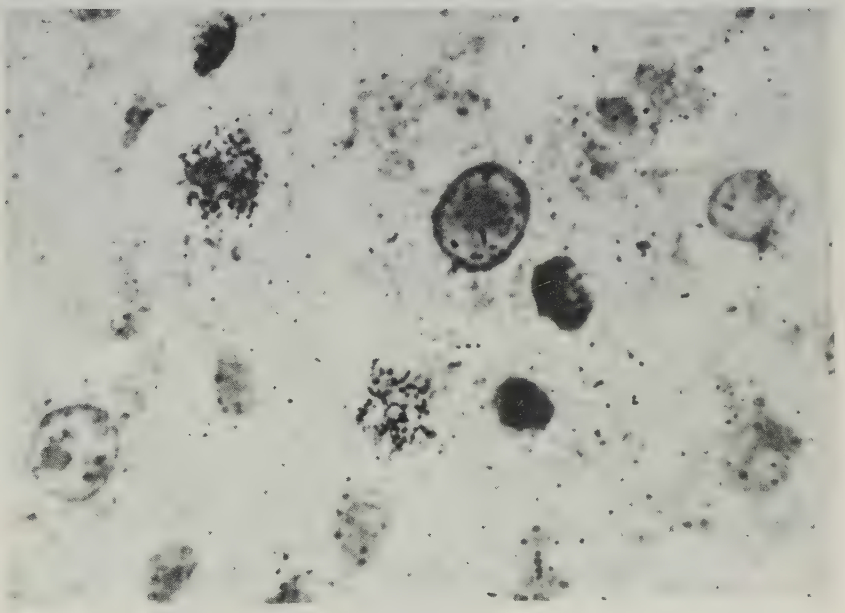
Vergrößerungen a 1:770, b + c 1:1500



5 a



5 b

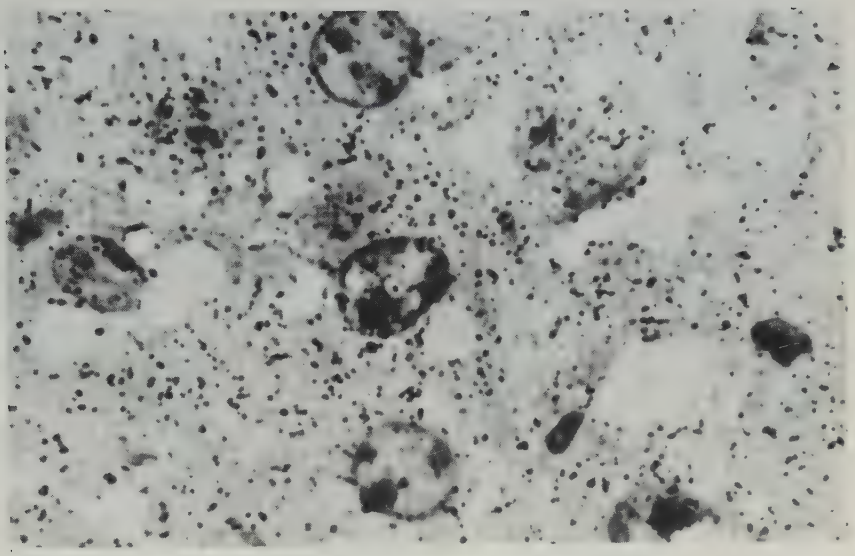


5 c

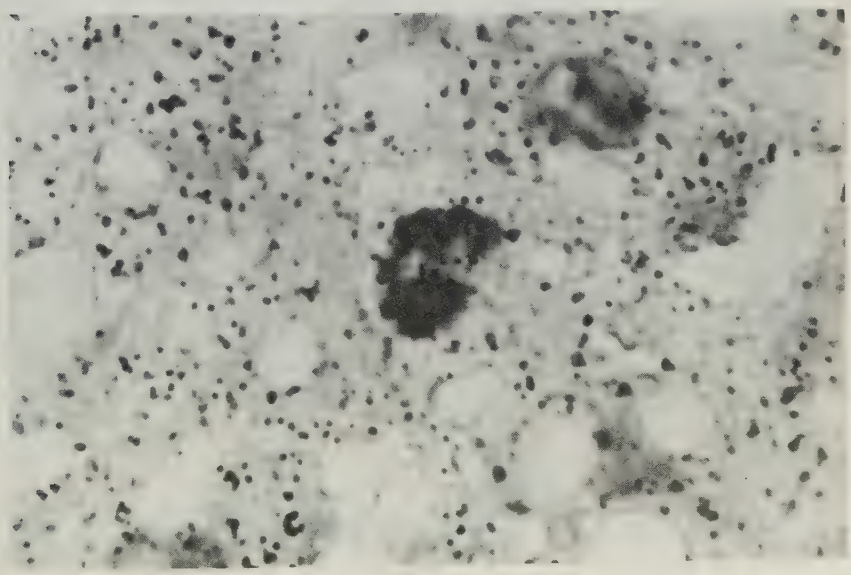
Abb. 6 a-e: Nachgefärbte Autoradiogramme, Rattenleber, K2-Emulsion. Einmalige Injektion von ^{3}H-l-Phenylalanin 39 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie, Tötung 1 Std. später.
Markierte Mitosen in allen Stadien:

a) Praeprophase
b) Prophase
c) 2 Metaphasen
d) links im Bild späte Metaphase, rechts Anaphase
e) in Bildmitte Telophase, rechts davon 2 markierte Metaphasen.

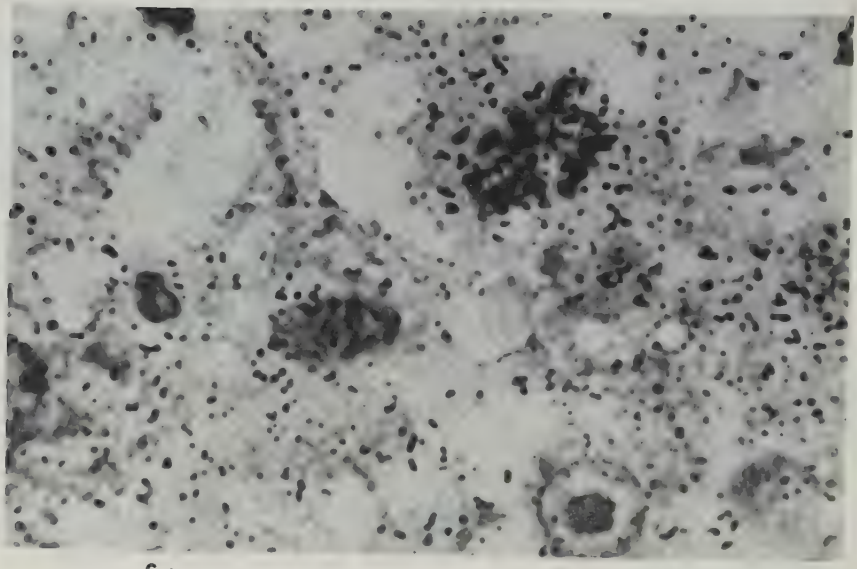
Vergrößerungen a 1:1500, b+c 1:1900, d 1:1500, e 1:960



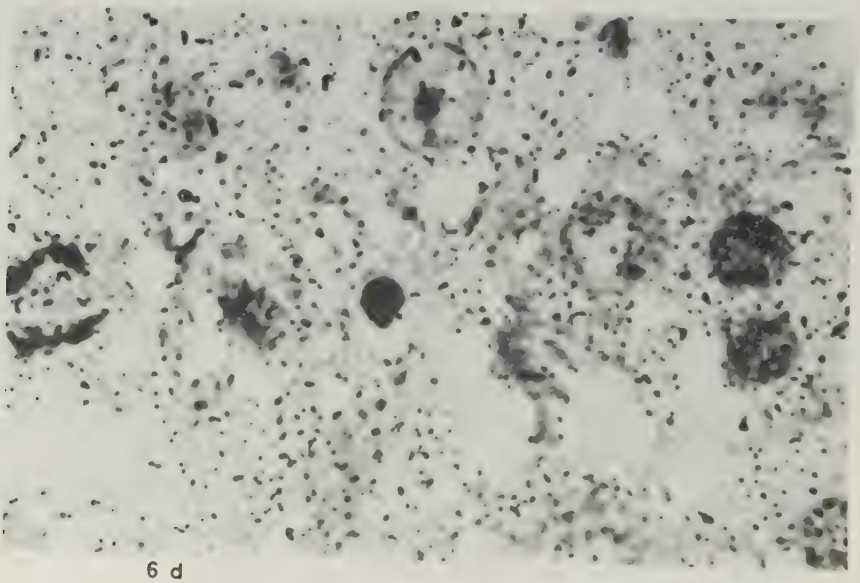
6 a



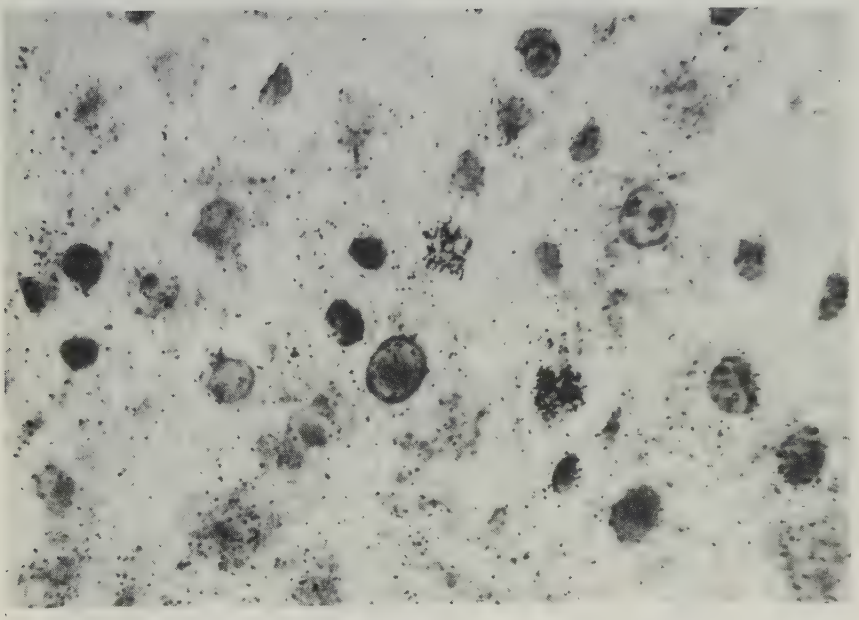
6 b



6 c



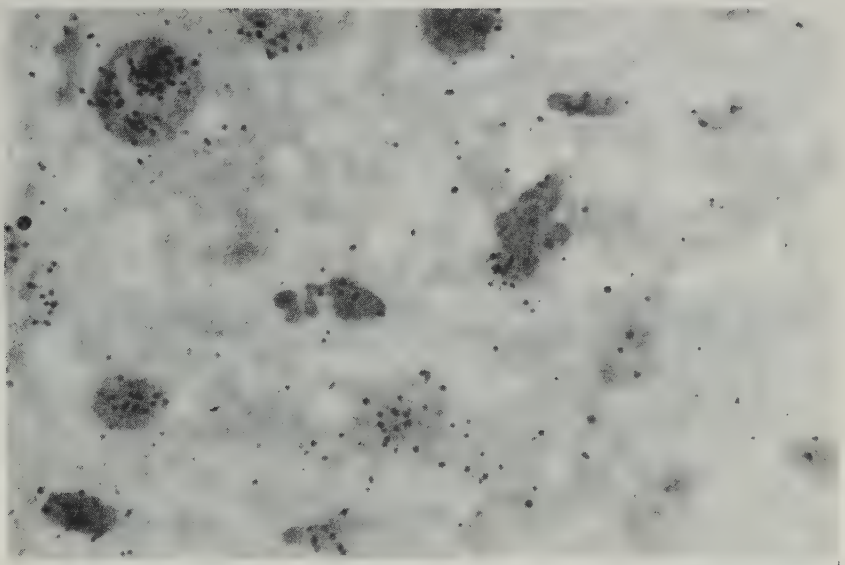
6 d



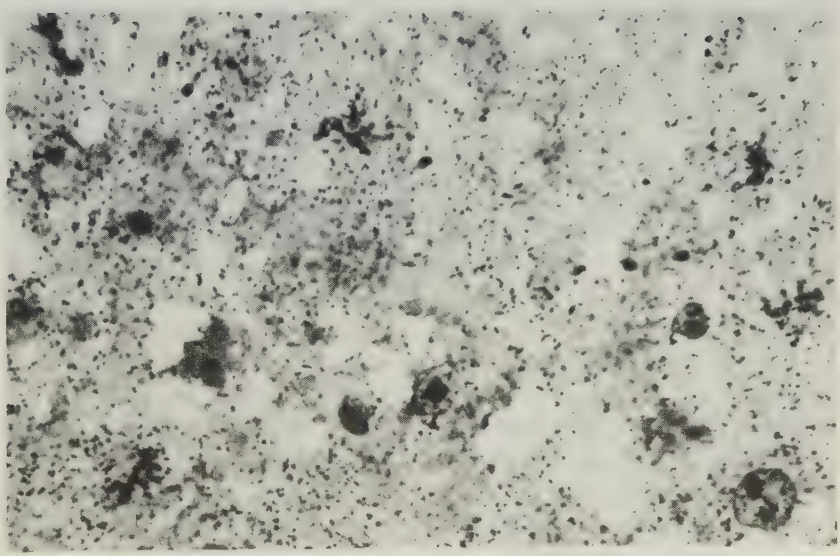
6 e

Abb. 7 a-c: Nachgefärbte Autoradiogramme, Rattenleber.
a) Einmalige Injektion von ^{3}H-Cytidin 40 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie, Tötung 50 Min. später.
2 markierte pathologische Mitosen.
b+c) Einmalige Injektion von ^{3}H-l-Phenylalanin 39 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie, Tötung 1 Std. später, K2-Autoradiogramme.
b = fünf, c = drei markierte pathologische Mitosen

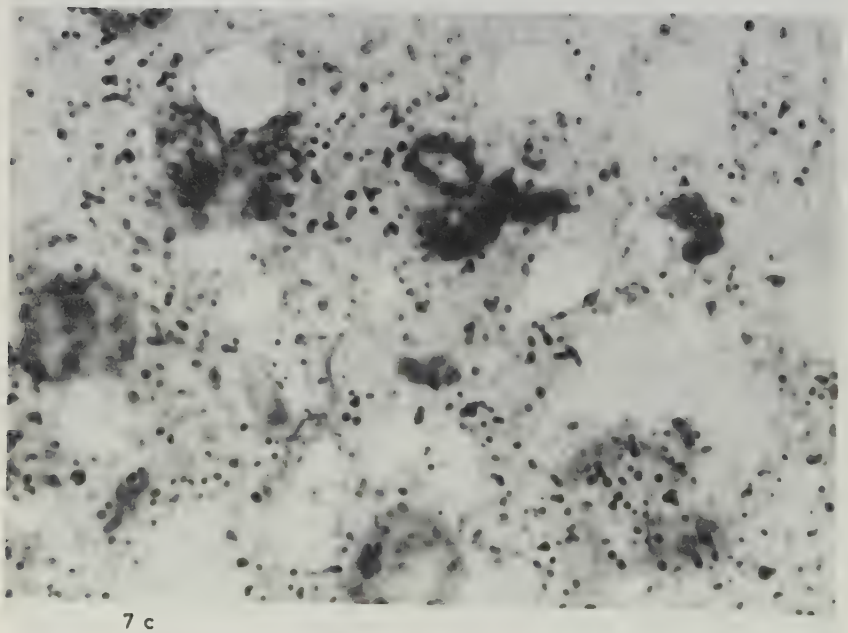
Vergrößerungen a 1:1500, b 1:960, c 1:1900



7a



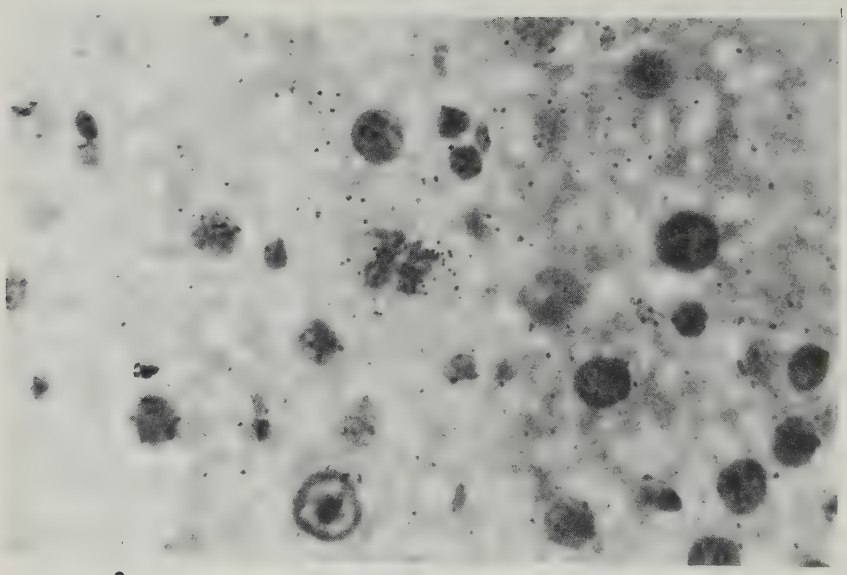
7 b



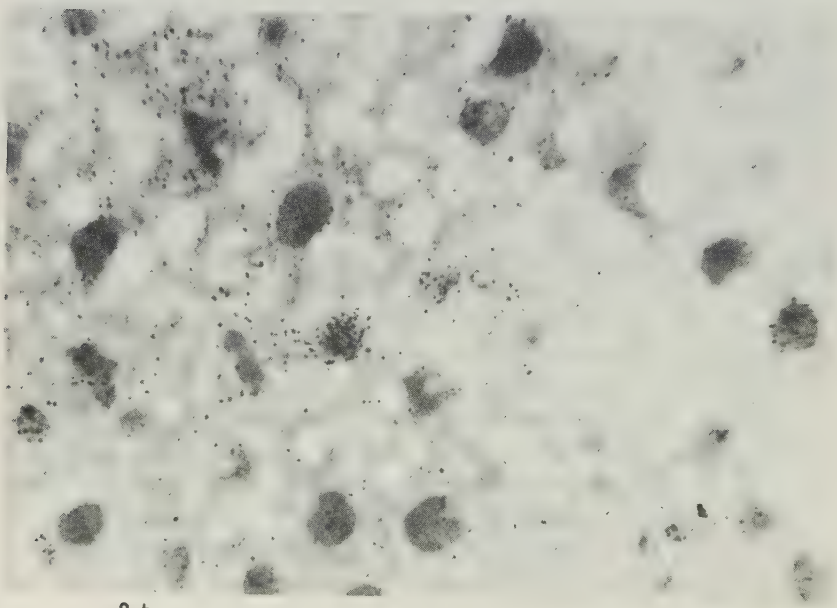
7 c

Abb. 8 a+b: Nachgefärbte Autoradiogramme, Rattenleber.
a) Einmalige Injektion von ^{3}H-Cytidin 40 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie, Tötung 50 Min. später.
Stark markierte Kerne im rechten unteren Quadranten, wesentlich schwächer markierte Kerne in den übrigen Bildabschnitten. In Bildmitte eine markierte Metaphase.
b) Einmalige Injektion von ^{3}H-Cytidin 40 Std. nach 2/3-Teilhepatektomie, Tötung 3 Std. später.
Stark markierte Kerne von Leberepithelien in Bildmitte und am rechten Rand, übrige Kerne wesentlich schwächer geschwärzt, im linken oberen Quadranten eine markierte pathologische Mitose. Gegenüber a mit vornehmlicher Markierung der Kerne in b Migrationseffekt mit schon stärkerer cytoplasmatischer Schwärzung erkennbar

Vergrößerungen 1:960



8 a



8 b

Herrn Professor Dr. E. Stöcker danke ich herzlich für die Überlassung des Themas, ganz besonders aber für die wohlwollende und stets gewährte Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Professor Dr. H.-W. Altmann bin ich für die Übernahme des ersten Korreferates sowie für die großzügige Überlassung eines Arbeitsplatzes zu großem Dank verpflichtet.

Herrn Professor Dr. W. Maurer danke ich sehr für die Übernahme des zweiten Korreferates.

G. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

ALBOUY, G.
H. FARAGGI
Sur le mécanisme du fading des plaques pour recherches nucléaires.
Comt. rend. Acad. Sci. 228, 68 - 70 (1949)

ALTMANN, H.-W.
Über den Funktionsformwechsel des Kernes im exokrinen Gewebe des Pankreas.
Z. Krebsforsch. 58, 632-645 (1952)

ALTMANN, H.-W.
Regeneration und Zellersatz.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 50, 15-51 (1966)

BENNINGHOFF, A.
Funktionelle Kernschwellung und Kernschrumpfung.
Anat. Nachr. 1, 50-52 (1949/50)

BUSANNY-CASPARI, W.
Autoradiographische Untersuchung mit ^{3}H-Thymidin über die DNS-Synthese in Leberzellen verschiedener Ploidiestufen.
Frankf. Z. Path. 72, 123-134 (1962)

BUSANNY-CASPARI, W.
M. DEIMEL
Untersuchungen mit ^{3}H-markierten Aminosäuren zur Proteinsynthese in der regenerierenden Rattenleber.
Z. exp. Med. 136, 456-465 (1963)

CASTRO, S.
A.G. FORAKER
Nucleolar mass in rat livers.
Arch. Path. 74, 495-498 (1961)

CITOLER, P.
W. MAURER
Autoradiographische Untersuchungen des Eiweißstoffwechsels von Kern und Cytoplasma bei dem spontanen Mammacarcinom der Maus.
Beitr. path. Anat. 128, 359-375 (1963)

CITOLER, P.
Karin CITOLER
K. HEMPEL
Brigitte SCHULTZE
W. MAURER
Autoradiographische Untersuchungen mit zwölf ^{3}H- und fünf ^{14}C-markierten Aminosäuren zur Größe des nucleolären und cytoplasmatischen Eiweißstoffwechsels bei verschiedenen Zellarten von Maus und Ratte.
Z. Zellforsch. 70, 419-448 (1966)

DEIMEL, M.
W. MAURER

Konzentration und Austauschrate des freien Methionins in Muskel und Leber der Ratte.

Biochem. Z. 334, 462-472 (1961)

EDWARDS, J.L.
A.L. KOCH
Pauline YOUCIS
H.L. FREESE
M.B.LAITE
J.Th. DONALSON

Some characteristics of DNA synthesis and the mitotic cycle in Ehrlich ascites tumor cells.

J. Biophys. Biochem. Cytolog. 7, 273-281 (1960)

FEINENDEGEN, L.E.
V.P. BOND
W.W. SHREEVE
R.B. PAINTER

RNA and DNA metobolism in human tissue culture cells studied with tritiated cytidine.

Exp. Cell Res. 19, 443-459 (1960)

FEINENDEGEN, L.E.
V.P.BOND
R.B. PAINTER

Studies of interrelationship of RNA synthesis, DNA synthesis and the precursor pool in human tissue culture cells studied with tritiated pyrimidine nucleosides.

Exp. Cell Res. 22, 381-405 (1961)

FICQ, A.
J. BRACHET

Distributation de l'acide ribonucléique et incorporation de la phénylalanine-2-^{14}C dans les proteines.

Exp. Cell Res. 11, 135-145 (1956)

FRIEDERICHS, K.H.

Zur zellulären RNS- und Eiweiß-Synthese im Leberparenchym und -carcinom der Ratte nach kontinuierlicher Nitrosomorpholin-Applikation. Autoradiographische Untersuchungen nach Injektion von ^{3}H-Cytidin bzw. ^{3}H-Phenylalanin.

Inaug. Diss. Würzburg, in Vorbereitung

GRUNDMANN, E.
G. BACH

Amitosen, Endomitosen und Mitosen nach partieller Hepatektomie.

Beitr. path. Anat. 123, 144-172 (1960)

GRUNDMANN, E.
H.J. SEIDEL

Die reparative Parenchymregeneration am Beispiel der Leber nach Teilhepatektomie.

in: Handbuch der allgem. Pathologie, Bd. VI/2, p. 129-243, Springer Berlin-Heidelberg-New York 1969

HEINE, W.-D. — Die Zellproliferation der Niere unter normalen und pathologischen Bedingungen. Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin an der Ratte.

Inaug. Diss. Würzburg 1968

HEINE, W.-D.
E. STÖCKER — Autoradiographische Untersuchungen zum Proliferationsmodus der regenerierenden Leber alter Ratten.

XII. Sympos. Ges. Histochem. Gent 1967, Acta histochem. Suppl. VIII, 305-314 (1968)

HEMPEL, K.
K.J. LENNARTZ
W. MAURER — Autoradiographische Untersuchungen zum Eiweißstoffwechsel in Kern und Cytoplasma der normalen und durch Buttergelb cancerisierten Leberzelle.

Beitr. path. Anat. 126, 381-394 (1962)

HERZ, R.H. — Photographic fundamentals of autoradiography.

Nucleonics 9, 24-39 (1951)

HERZ, R.H. — Methods to improve the performance of stripping emulsions.

Lab. Invest. 8, 71-81 (1959)

HIGGINS, G.M.
R.M. ANDERSON — Experimental pathology of the liver. Restoration of the liver in the white rat following partial surgical removal.

Arch. Path. 12, 186-202 (1931)

HILSCHER, W.
W. MAURER — Autoradiographische Bestimmungen der Dauer der DNS-Verdopplung und ihres zeitlichen Verlaufs bei Spermatogonien der Ratte durch Doppelmarkierung mit ^{14}C- und ^{3}H-Thymidin.

Naturwissenschaften 49, 352 (1962)

HÖPER, V. — Zum Proliferationsmodus der Rattenleber nach Teilhepatektomie. Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin.

Inaug. Diss. Würzburg 1968

HUGHES, W.L.
V.P. BOND
G. BRECHER
E.P. CRONKITE
R.B. PAINTER
H. QUASTLER
F.G. SHERMAN

Cellular proliferation in the mouse as revealed by autoradiography with tritiated thymidine.

Proc. Nat. Acad. Sci. 44, 476-483 (1958)

JOHNSON, H.A.
J.R. RUBINI
E.P. CRONKITE
V.B. BOND

Labeling of human tumor cells in vivo by tritiated thymidine.

Lab. Invest. 9, 460-465 (1960)

JORDAN, S.W.

Electron microscopy of hepatic regeneration.

Exp. molec. Path. 3, 183-200 (1964)

KAUFMANN, E.
A. TRAUB
Y. TEITZ

Isolation of different-sized nucleoli from normal and regenerating rat liver.

Exp. Cell Res. 49, 215-218 (1968)

KLEINFELD, R.G.

Altered patterns of RNA metabolism in liver cells following partial hepatectomy and thioacetamide treatment.

Nat. Cancer Inst. Monogr. 23, 369-378 (1966)

KOBURG, E.

The use of grain counts in the study of cell proliferation.

in: Cell Proliferation, pp. 62-79, Blackwell Sci. Publications, Oxford 1963

KOBURG, E.
Brigitte SCHULTZE

Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin über die Dauer der DNS-Synthese, der Ruhephase und der Mitose bei proliferierenden Systemen wie den Epithelien des Darmes, des Oesophagus und der Cornea der Maus.

Verh. Dtsch. Ges. Path. 45, 103-107 (1961)

KOBURG, E.
W. MAURER

Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin über die Dauer der DNS-Synthese und den zeitlichen Verlauf der DNS-Synthese bei verschiedenen Zellarten der Maus.

Strahlentherapie, Sdb. 53, 502-511 (1963)

LEBLOND, C.P.
B. KOPRIWA
B. MESSIER

Radioautography as a histochemical tool.

1. Internat. Congr. Histochem. Cytochem., p. 1-31; Pergamon Press, Oxford-London-New York-Paris 1963

LENNARTZ, K.J.
K. HEMPEL
W. MAURER

Autoradiographische Untersuchung über die Änderung des Eiweißstoffwechsels in Kern und Cytoplasma bei Cancerisierung der Rattenleber durch Buttergelb.

Naturwissenschaften 48, 529 (1961)

LIEBERMANN, J.
R. ABRAMS
P. OVE

Changes in the metabolism of ribonucleic acid preceeding the synthesis of deoxyribonucleic acid in mammalian cells cultured from the animal.

J. biol. Chem. 238, 2141-2149 (1963)

LINNARTZ-NIKLAS,A.
K.HEMPEL
W. MAURER

Autoradiographische Untersuchung über den Eiweiß- und RNS-Stoffwechsel tierischer Zellen während der Mitose.

Z. Zellforsch. 62, 443-453 (1964)

MAURER, W.

Grundlagen der Technik des Arbeitens mit radioaktiven Isotopen.

in: Handbuch der Neurochirurgie (Hrg. Olivecrona H. und W. Tönnis), Bd. I/1, pp. 547-658, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959

MAURER, W.

Über die Größe des Umsatzes von Organ- und Plasmaeiweiß.

in: "Dynamik des Eiweißes"; 10. Colloq. Ges. physiol. Chem., Mosbach, April 1959; Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960

MAURER, W.
K.J. LENNARTZ
K. HEMPEL

Über eine Deutung der Autoradiogramme mit markierten Aminosäuren durch ein allgemein gültiges zelluläres Inkorporationsschema und Einfluß der Cancerisierung durch Buttergelb (DAB).

5. Internat. Sympos. Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung, Bad Gastein 1962

MAURER, W.
E. PRIMBSCH

Größe der ß-Selbstabsorption bei der ^{3}H-Autoradiographie.

Exp. Cell Res. 33, 8-18 (1964)

MC LAUGHLIN, W.L.
M. EHRLICH

Film badge dosimetry: How much fading occurs?

Nucleonics 12, No. 10, 30-34 (1954)

MESSIER, B.
C.P. LEBLOND

Preparation of coated radioautography by dipping sections in fluid emulsion.

Proc. Soc. Exp. Med. 96, 7-10 (1957)

MIRONESCU, S.
C. DRAGOMIR

Nucleolar number variations in rat liver cells after partial hepatectomy.

Exp. Cell Res. 43, 217-220 (1966)

MIRONESCU, S.
C. DRAGOMIR

Nucleolar behavior in regenerating liver of normal and whole-body irradiated rats.

Cancer Res. 27, 1819-1830 (1967).

NIKLAS, A.
W. OEHLERT

Autoradiographische Untersuchungen der Größe des Eiweißstoffwechsels verschiedener Organe, Gewebe und Zellarten.

Beitr. path. Anat. 116, 92-123 (1956)

NIKLAS, A.
W. OEHLERT

Autoradiographische Untersuchungen der Größe des Eiweißstoffwechsels verschiedener Organe, Gewebe und Zellarten.

Acta histochem. 4, 166-170 (1957)

NIKLAS, A.
E. QUINCKE
W. MAURER
E. NEYEN

Messung der Neubildungsraten und biologischen Halbwertszeiten des Eiweißes einzelner Organe und Zellgruppen bei der Ratte.

Biochem. Zeitschr. 330, 1-20 (1958)

NORRIS, W.P.
L.A. WOODRUFF

The fundamentals of radioautography.

Ann. Rev. nucl. Sci. 5, 297-325 (1954)

PALME, G.
E. LISS
F. WIEBEL
Autoradiographische Untersuchungen über den Einfluß alkylierender Zytostatika auf den Generationszyklus normaler Wechselgewebe und Aszitestumorzellen.
Nucl. Med. Sup. 3, 39 - 45 (1965)

RASCH, E.M.
DNA synthesis in plant tumor cells.
Exp. Cell Res. 36, 475-486 (1964)

ROBKE, K.
Über den Einfluß von bleibedingten Kerneinschlüssen auf den zellulären Ribonukleinsäure- und Eiweiß-Stoffwechsel im Hauptstückepithel der Rattenniere.
Inaug. Diss. Würzburg 1967

SCHNEIDER, G.
W. MAURER
Autoradiographische Untersuchungen über den Einbau von ^{3}H-Cytidin in die Kerne einiger Zellarten der Maus und über den Einfluß des Fixationsmittels auf die ^{3}H-Aktivität.
Acta Histochem. 15, 171-181 (1963)

SCHULTZE, Brigitte
Autoradiographische Untersuchungen der Eiweiß-, Ribonukleinsäure- und Deoxyribonukleinsäure-Synthese der Zelle. Bericht über Technik und Ergebnisse der Tritium-Autoradiographie.
Habilitationsschrift, Würzburg 1967

SCHULTZE, Brigitte
Orthologie und Pathologie des Nukleinsäure- und Eiweißstoffwechsels der Zellen im Autoradiogramm.
in: Handbuch der Allgem. Pathologie, Bd. II/5, p. 466-670, Berlin-Heidelberg-New York, Springer 1968

SCHULTZE, Brigitte
W. MAURER
Comparative autoradiographic study of the RNA and protein metabolism within the various tissues and cells of the mouse with tritiated RNA precursors and labeled amino acids.
in: Tritium in the Physical and Biological Sciences. Vl. II, pp. 229-236, Internat. Atomic Energy Agency, Wien 1962

SCHULTZE, Brigitte
W. OEHLERT
W. MAURER

Vergleichende autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-, ^{14}C- und ^{35}S-markierten Aminosäuren zur Größe des Eiweißstoffwechsels einzelner Gewebe und Zellarten bei Maus, Ratte und Kaninchen.

Beitr. path. Anat. 122, 406-431 (1960)

SCHULTZE, Brigitte
W. OEHLERT
W. MAURER

Über eine allgemeine Beziehung der Umsatzrate der Ribonukleinsäure und des Eiweißes im Organismus von Ratte und Maus.

Biochim. Biophys. Acta 49, 35-46 (1961)

SIEBERT, G.

Gewinnung und Funktion isolierter Zellkerne.

Z. Klin. Chemie 4, 93-105 (1966)

STENGER, R. J.
D. B. CONFER

Hepatocellular ultrastructure during liver regeneration after subtotal hepatectomy.

Exp. molec. Path. 5, 455-474 (1966)

STÖCKER, E.

Autoradiographische Untersuchungen zur Deutung der funktionellen Kernschwellung am exokrinen Pankreas.

Z. Zellforsch. 57, 47-62 (1962)

STÖCKER, E.

Autoradiographische Untersuchungen zur Ribonukleinsäure- und Eiweißsynthese im nuklearen Funktionsformwechsel der exokrinen Pankreaszelle.

Z. Zellforsch. 57, 145-171 (1962)

STÖCKER, E.

Studien zur zellulären Eiweiß- und Ribonukleinsäure-Synthese in normalen und durch Thioacetamid beeinflußten Leberzellen der Ratte. Autoradiographische Untersuchungen mit tritiiertem Phenylalanin, Cytidin und Thymidin.

Habilitationsschrift, Würzburg 1963

STÖCKER, E.

Zur Frage der funktionellen und pathologischen Kernschwellung (Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Phenylalanin und ^{3}H-Cytidin an der Rattenleber nach Thioacetamid)

Naturwissenschaften 50, 130 (1963)

STÖCKER, E. Autoradiographische Untersuchungen zur Aminosäure-Inkorporation im Nukleolus.
Z. Zellforsch. 58, 790-797 (1963)

STÖCKER, E. Die Größe des Nukleolus als Maß seiner synthetischen Aktivität. (Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Cytidin und ^{3}H-Phenylalanin)
Naturwissenschaften 50, 44 (1963)

STÖCKER, E. Autoradiographische Untersuchungen zur funktionellen und pathologischen Kernschwellung in der Rattenleber nach Fütterung von Thioacetamid.
Z. Zellforsch. 62, 80-97 (1964)

STÖCKER, E. Autoradiographische Studien zum Einfluß von Thioacetamid auf den zellulären Eiweiß- und Nukleinsäurestoffwechsel in Leberzellen der Ratte.
Beitr. path. Anat. 129, 247-295 (1964)

STÖCKER, E. Größe und synthetische Aktivität des Nukleolus. Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Cytidin, -Leucin, -Phenylalanin und -Thymidin.
2. Internat. Kongr. f. Histo- und Cytochemie, Frankfurt 1964, Springer Berlin-Göttingen-Heidelberg, S. 99-100

STÖCKER, E. Der Proliferationsmodus in Niere und Leber.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 50, 53-74 (1966)

STÖCKER, E. Autoradiographische Untersuchungen zum zellulären Proliferationsstoffwechsel im Parenchym von Leber und Niere der Ratte.
12. Sympos. d. Ges. f. Histochemie, Gent 1967 Acta histochem., Suppl.VIII, 205-229 (1968)

STÖCKER, E.

Autoradiographische Untersuchungen über den Nukleinsäure- und Eiweiß-Stoffwechsel bei der Leberregeneration.

Internat. Sympos. über aktuelle Probleme der Leberchirurgie im Rahmen des Deutschen Chirurgen-Kongresses München 1967
Acta Hepato-Splenologica 15, 187 (1968)

STÖCKER, E.
W. MAURER
H.-W. ALTMANN

Autoradiographische Untersuchungen der Eiweiß- und Ribonukleinsäure-Synthese mit ^{3}H-Leucin und ^{3}H-Cytidin zur Deutung der funktionellen Kernschwellung während des Funktionsformwechsels im exokrinen Pankreas.

Klin. Wschr. 39, 926-927 (1961)

STÖCKER, E.
W. MAURER
H.-W. ALTMANN

Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Cytidin über die Ribonukleinsäure-Synthese im Nukleolus und Kern und die Migration der Ribonukleinsäure zum Cytoplasma während des Funktionsformwechsels im exokrinen Pankreas.

Naturwissenschaften 48, 582-583 (1961)

STÖCKER, E.
H.-W. ALTMANN

Die Größe des Nukleolus und die Nukleolus-Karyoplasma-Relation als Ausdruck synthetischer Aktivitäten. Autoradiographische Untersuchung an Leberzellen normaler und Thioacetamid-behandelter Ratten.

Z. Krebsforsch. 65, 351-377 (1963)

STÖCKER, E.
G. BACH

Zur Proliferation und DNS-Syntheserate des Leberparenchyms nach Teilhepatektomie. Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin.

Naturwissenschaften 52, 264-265 (1965)

STÖCKER, E.
W.D. HEINE

Über die Proliferation von Nieren- und Leberepithel unter normalen und pathologischen Bedingungen.

Beitr. path. Anat. 131, 410-434 (1965)

STÖCKER, E.
CH. HAUSWALDT
O. KLINGE

Zur zellulären Aminosäure-Inkorporation im in- und exkretorischen Pankreas unter experimentellen Bedingungen.

Experientia (Basel) 21, 512-513 (1965)

STÖCKER, E.
U. PFEIFER

Zum Proliferationsmodus des Leberparenchyms nach Teilhepatektomie.

Naturwissenschaften 52, 663 (1965)

STÖCKER, E.
V. HÖPER
S. PLATO
W.-D. HEINE

Zum Proliferationsmodus der cirrhotischen Rattenleber nach Teilhepatektomie. Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin.

Klin. Wschr. 44, 657-658 (1966)

STÖCKER, E.
T. YOKOYAMA

Autoradiographische Studien zum Einfluß von Thioacetamid auf die Ribonukleinsäure-Migration und Desoxyribonukleinsäure-Synthese verschiedener parenchymatöser Zellen der Ratte.

Beitr. path. Anat. 134, 1-28 (1966)

STÖCKER, E.
U. PFEIFER

Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Thymidin an der regenerierenden Rattenleber.

Z. Zellforsch. 79, 374-388 (1967)

STÖCKER, E.
W. LIEBSCHER
H.-W. ALTMANN

Zum Proliferations-Stoffwechsel der Rattenleber nach Teilhepatektomie. Autoradiographische Untersuchungen mit ^{3}H-Cytidin, ^{3}H-Phenylalanin und ^{3}H-Thymidin.

Experientia (Basel) 23, 718-719 (1967)

STÖCKER, E.
K. ROBKE
H.-A. MÜLLER

Autoradiographische Untersuchungen an "direkten" Kerneinschlüssen im Nierenepithel der Ratte nach Bleivergiftung.

Experientia (Basel) 23, 558 (1967)

STÖCKER, E.
W. BOECKER

Zur Leberregeneration der Ratte nach Teilhepatektomie während akuter CCl_4-Intoxikation.

Experientia (Basel) im Druck

STÖCKER, E.
W.-D. HEINE

Die Leberzellproliferation der Ratte in verschiedenen Lebensaltern.

Akademie der Wissenschaften und der Literatur, Mainz 1969, Symp.:"Altern auf molekularer Ebene", Schattauer Verlag, im Druck

STÖCKER, E.
K.H. FRIEDERICHS
Zur zellulären RNS- und Eiweiß-Synthese im Leberparenchym der Ratte nach kontinuierlicher Nitrosomorpholin-Applikation.
in Vorbereitung

STOWELL, R.E.
Nucleic acids and cytological changes in regenerating rat liver.
Arch. Pathol. 46, 164-178 (1948)

STOWELL, R.E.
Alterations in nucleic acids during hepatoma formation in rats fed p-dimethylaminoazobenzene.
Cancer (Philad.) 2, 121-131 (1949)

TAYLOR, E.W.
Relation of protein synthesis to the division cycle in mammalian cell cultures.
J. Cell Biol. 19, 1-18 (1963)

TAYLOR, E.W.
Control of DNA synthesis in mammalian cells in culture.
Exp. Cell Res. 40, 316-332 (1965)

YOUNG, R.W.
Regional differences in cell generation time in growing rat tibiae.
Exp. Cell Res. 26, 562-567 (1962)

Lebenslauf

Wilhelm Liebscher, geb. am 21. 4. 1939 in Troppau, als Sohn des Dr. med. Wilhelm Liebscher, Facharzt für Innere Krankheiten, und seiner Ehefrau Johanna, geb. Schwarz.

1939 - 1945	Gräfenberg - Freiwaldau/Sudetenland

Schulausbildung

1945 - 1949	Volksschule Retzstadt, Kreis Karlstadt/Ufr.
1949 - 1959	Oberschule in Bad Kissingen, Bad Pyrmont und Wolfenbüttel
5.3.1959	Abitur in der Großen Schule in Wolfenbüttel

Militärdienst

1.4.1959 - 30.9.1960 Wehrdienst bei der Bundeswehr

Medizinstudium in Würzburg

WS 1960/61	Beginn des Studiums
13.10.1961	Naturwissenschaftliche Vorprüfung
31.10.1963	Ärztliche Vorprüfung
7. 8. 1967	Ärztliche Prüfung

Medizinalassistenten-Ausbildung

1.9.1967 - 31.8.1969	Pathologisches Institut der Universität Würzburg. Innere Medizin, Chirurgische und Gynäkologisch-Geburtshilfliche Ausbildung am Städtischen Krankenhaus Wertheim/Main
5.9.1969	Bestallung als Arzt

Fachausbildung

1.10.1969 - 31.3.1970	Pathologisches Institut der Universität Würzburg
Seit 1.4.1970	Medizinische Poliklinik der Universität Würzburg

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe. Weiterhin versichere ich ehrenwörtlich, daß ich von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Wilhelm Liebscher

Schnelldruck - Böhler, 87 Würzburg, Wirsbergstraße 10